

**Bedeutung milzerhaltender Operationen für
Blutbild, Lipopolysaccharidbelastbarkeit, Clearancefunction,
humorale Abwehr und Chemotaxis**

STEFAN MIKE GÄNSHEIMER



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Chirurgischen Klinik Innenstadt der
Ludwig-Maximilian-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. L. Schweiberer

**Bedeutung milzerhaltender Operationen für
Blutbild, Lipopolysaccharidbelastbarkeit,
Clearancefunktion, humorale Abwehr und
Chemotaxis"**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilian-Universität zu München

vorgelegt von
Stefan Mike Gänsheimer
aus
München

1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:

PD Dr. H. Welter

Mitberichterstatter:

Prof. Dr. A. Baethmann

Prof. Dr. L. Schweiberer

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:

Dekan:

Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung:

17. 02. 1987

Gewidmet meinen lieben Eltern

GLIEDERUNG

	Seite
1. Einleitung	1
1.1 Anatomie der Milz	1
1.2 Histologie der Milz	1
1.2.1 Kreislauf der Milz	2
1.3 Funktionen der Milz	2
1.3.1 Reservoir	2
1.3.2 Hämatopoese	2
1.3.3 Immunologische Aktivität	2
1.3.4 Filterfunktion	3
1.4 Splenektomie	3
1.4.1 Indikationen, diagnostische und therapeutische	3
1.4.2 Veränderungen der Blutzellen nach Splenektomie	3
1.4.3 Erhöhte Infektionsgefahr	4
1.4.4 Veränderungen am Immunsystem	5
1.5 Alternativen zur Splenektomie	5
1.5.1 Teilresektion der Milz	5
1.5.1.1 Indikationen und Kontraindikationen	5
1.5.1.2 Techniken der Teilresektion	6
1.5.1.2.1 Infrarotkoagulation	6
1.5.2 Autotransplantation von Milzgewebe	6
1.5.2.1 Indikationen	7
1.5.2.2 Techniken der Autotransplantation	7

2.	Material und Methoden	8
2.1	Gruppeneinteilungen für die LD-50-Bestimmungen	8
2.1.1	LD-50-Bestimmung	8
2.1.1.1	Lipopolysaccharid B, Escherichia coli	8
2.1.1.2	Verabreichung des Lipopolysaccharids	8
2.2	Gruppeneinteilungen für die Lipopolysaccharidbelastung	9
2.2.1	Operatives Vorgehen	9
2.2.2	Blutbild- und Gewichtskontrollen	11
2.2.3	Lipopolysaccharidbelastung	11
2.3	Gruppeneinteilung für die szintigraphischen Untersuchungen	12
2.3.1	Operatives Vorgehen	12
2.3.2	Szintigraphische Untersuchung	12
2.3.2.1	Blutgewinnung	12
2.3.2.2	Markierung und Wärmeschädigung der Erythrozyten	12
2.3.2.3	Reinfusion und szintigraphische Messung	13
2.3.2.4	Berechnung der Aktivität	13
2.4	Gruppeneinteilung für Antikörpermessung und Chemotaxis	13
2.4.1	Operatives Vorgehen	13
2.4.2	Blutbild- und Gewichtskontrollen	14
2.4.3	Endotoxingabe, Boosterungen	14
2.4.4	Antikörpernachweis	14
2.4.4.1	Materialien	14
2.4.4.2	Arbeitsanleitung	15
2.4.5	Messung der Antikörperbildung	15
2.4.5.1	Materialien	15

	Seite
2.4.5.2	Arbeitsanleitung 16
2.4.5.3	Optimierung 16
2.4.5.3.1	Optimale Konzentration von Conjugate und Antigen 16
2.4.5.3.2	Optimale Konzentration des Antiserums 17
2.4.6	Chemotaxisuntersuchung 19
2.4.6.1	Materialien 19
2.4.6.2	Arbeitsanleitung 19
3.	Ergebnisse 21
3.1	LD-50 21
3.1.1	Mäuse 21
3.1.2	Ratten 21
3.2	Verlaufskontrolle und Lipopolysaccharidbelastung der Ratten 22
3.2.1	Thrombozyten 22
3.2.2	Gewichtsverlauf 24
3.2.3	Leukozyten 26
3.2.4	Lipopolysaccharidbelastung 28
3.2.4.1	Statistische Tabellen 29
3.3	Speicherungsfaktoren aus den szintigraphischen Messungen 30
3.4	Verlaufskontrollen der Kaninchen 32
3.4.1	Leukozyten 32
3.4.2	Thrombozyten 32
3.4.3	Gewicht 33
3.4.4	Antikörpernachweis 34
3.4.5	Antikörpertiter 35
3.4.6	Chemotaktische Aktivität 40

4.	Diskussion	43
4.1	Verlaufskontrolle des Blutbildes und Gewichtes	43
4.2	Auswertung der Lipopolysaccharidbelastung	44
4.3	Auswertung der szintigraphischen Untersuchungen	45
4.4	Auswertung der Antikörperbildung	45
4.5	Messung des Antikörpertiters	45
4.6	Einfluß der Operationen auf die Chemotaxis	46
4.7	Zusammenfassung	47
5.	Literaturverzeichnis	
6.	Danksagung	
7.	Lebenslauf	

1. Einleitung

Die Aufgabe der Milz ist in den letzten Jahren eingehend untersucht worden. Schon 1919 wurde vor einer manchmal vielleicht leichtfertig vorgenommenen Splenektomie gewarnt. Die Autoren stellten bei splenektomierten Ratten eine fünfmal höhere Mortalität bei zufälliger Infektion durch den Erreger der Rattenpest fest als bei scheinoperierten Tieren (39).

Das Polytrauma, das bei jungen Erwachsenen die häufigste Todesursache ist, ist oft mit einer Milzverletzung verbunden. Somit wird die schwere Infektion bzw. die Prävention dieser nach Splenektomie zu einem immer häufigeren Problem.

Soll die Milz nach einer Ruptur vollständig entfernt werden, um eine Blutung oder eine zweizeitige Ruptur zu vermeiden, oder soll eine milzerhaltende Operation, die einen Teil der Milzfunktionen erhalten würde, angestrebt werden?

In dieser Arbeit werden die Folgen milzerhaltender Operationen mit denen der Splenektomie und einer Scheinoperation verglichen. Hat eine dieser Operationen Vorteile bei der Abwehr einer künstlich induzierten Sepsis, bei der Antikörperbildung nach Impfungen bei der Clearance-Funktion und bei der chemotaktischen Eigenschaft neutrophiler Granulozyten?

1.1 Anatomie der Milz

Seit ihrer Erscheinung bei den primitiven Fischen hat die Milz dieselbe Struktur bewahrt, was unter anderem auf ihre Wichtigkeit hinweist. Sie hat bei verschiedenen Säugetieren (z. B. Pferd, Hund) Erythrozytenspeicherfunktion (bis zu 16 % des gesamten Blutvolumens), bei anderen (Mensch, Kaninchen) ist sie Teil des Immunsystems und ist relativ kleiner (65).

Beim erwachsenen Menschen ist die Milz kaffeebohnenähnlich, ca. 12 cm lang, 8 cm breit und 3 cm dick. Bei der Ratte und beim Kaninchen ist sie länglich und schmal (Ratte: ca. 3 cm lang, 0,5 cm breit, 0,2 cm dick; Kaninchen: ca. 6 cm lang, 1 cm breit und 0,4 cm dick).

Sie liegt in der linken Regio hypochondriaca mit der Längsachse parallel zur 10. Rippe. Die Vorderfläche hat Kontakt zur linken Niere und Nebenniere, Pankreasschwanz, linken Kolonflexur und Magen.

Die Arteria lienalis läuft beim Menschen kranial der Vena lienalis und dorsal bzw. kranial des Pankreas zum Milzhilus. Dort teilt sie sich in sehr variabler Weise in ihre Endäste auf.

1.2 Histologie der Milz

Die Milzkapsel senkt sich in Form von Balken in das Innere des Organs und bildet dort ein dreidimensionales Gerüst. In diesen Räumen lagert die rote Pulpa, die aus einem weiten, postkapillären Sinus besteht und die weiße Pulpa, die aus Lymphfollikeln, den sog. B-Regionen und aus strangförmigen lymphatischen Mänteln, der T-Region, zusammengesetzt ist.

Die rote Pulpa macht etwa 77 % des Milzvolumens aus (33).

1.2.1 Kreislauf der Milz

Die Äste der Arteria lienalis laufen in den bindegewebigen Balken, den sogenannten Trabekeln. Kleinere Äste treten als Zentralarterien in die rote Pulpa ein, wobei sie von den Malpighischen Körperchen umgeben werden. Diese entsprechen lymphatischen Primär- und Sekundärfollikeln. Nach Verlassen der Knötchen teilt sich die Zentralarterie in 40 - 60 Pinzelarterien auf, die sich wiederum in die sog. Hülsenkapillaren aufteilen. Diese münden trichterförmig in die Milzsinus, die ein vielfach anastomosierendes Netzwerk in der roten Pulpa bilden. Über die Pulpavenen wird das Blut in die Balkenvenen und schließlich in die Vena lienalis geleitet. Dies ist der "geschlossene Kreislauf". Im offenen Kreislauf muß das Blut einen Umweg über die Pulpastränge machen, in denen es unterschiedlich lange verweilt. Dieses System dient der Elimination von beschädigten Blutzellen.

1.3 Funktionen der Milz

1.3.1 Reservoir

Die Milz speichert Thrombozyten in einer Menge, die 30 % des peripheren Pools entspricht (8). Dies wird durch den fast regelmäßigen Thrombozytenanstieg nach Splenektomie, der meist nach einigen Monaten reversibel ist, bestätigt. Außerdem dient die Milz der Bereitstellung von Lymphozyten, die in ihr gespeichert sind (23). Diese befinden sich in den sog. B-Regionen, d. h. in den Malpighischen Körperchen und sind Vorstufen der Plasmazellen, die der humoralen Abwehr dienen.

1.3.2 Hämatopoese

Ab der Mitte des 3. Schwangerschaftsmonats bis zum achten Fetalmonat ist die Milz an der Hämatopoese beteiligt. Außerdem findet in dieser Zeit auch eine geringe Granulozyten- und Thrombozytenbildung statt. Bei Schädigung und fast vollständigem Ausfall der intraossären Blutbildung (z.B. bei der Osteomyelofibrose), kann die Milz die Hämatopoese übernehmen. Dies führt zu einer Größenzunahme des Organs.

1.3.3 Immunologische Aktivität

Die Milz ist mit den Lymphknoten an der Bildung von Plasmazellen und Lymphozyten beteiligt. Sie stellt ein Drittel des lymphatischen und des retikuloendothelialen Systems dar. Das lymphatische Gewebe macht etwa 15 - 35 % ihres Gesamtgewichts aus, beim gesunden Erwachsenen finden sich etwa 60 % B- und 25 % T-Lymphozyten (4).

Durch die lange Kontaktzeit des Blutes mit phagozytierenden Zellen, die durch den langsamen Blutfluß in den Milzsinus zustandekommt, dient sie dem Abbau der geschädigten Erythrozyten, Granulozyten, Thrombozyten und der Antigenclearance ohne präformierte Antikörper (47).

Außerdem werden in der Milz Opsonine produziert, die die Phagozytose von pyogenen Mikroorganismen wie *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Hämophilus influenzae*, durch neutrophile Granulozyten ermöglichen (34). Diese Opsonine sind Teil der Immunglobuline und wirken als IgG ohne und als IgM mit Komplementfaktoren (31). Erwähnenswert ist das Tuftsin, ein die Phagozytose förderndes Tetrapeptid, das durch ein in der Milz gebildetes Enzym von der Fe-Fraktion des IgG abgespalten wird (40).

1.3.4 Filterfunktion

Die Milz ist am Abbau gealterter Erythrozyten beteiligt. Diskutiert wird, daß membrandefekte Erythrozyten im glucosearmen Milieu des Milzsinus nicht mehr das Gefälle zwischen intra- und extrazellulärer Natrium- und Kaliumkonzentration aufrechterhalten können und so den "osmotischen Tod" sterben. Außerdem sollen Erythrozyten mit Strukturveränderungen an der Oberfläche aktiv phagozytiert werden (4). Strukturelemente der Erythrozyten wie Chromatinreste, die sog. Howell-Jolly-Körperchen, werden in der Milz eliminiert.

1.4 Splenektomie

Bis vor kurzem war die Splenektomie die sicherste Therapie der traumatisierten Milz. Sie führte zu einer dramatischen Verbesserung der Prognose bei Milzverletzungen und wurde so zur Therapie der Wahl bei Blutungen aus der Milz, die für den Patienten lebensgefährlich sein können (9).

1.4.1 Indikationen, diagnostische und therapeutische

Die Splenektomie kann auch aus diagnostischen Gründen im Rahmen des Staging beim Morbus Hodgkin ausgeführt werden, wenn die Therapie von der Erkennung abdominalen Beteiligung abhängt (25). Bei Bluterkrankungen, wie der hereditären Sphärozytose, der Elliptozytenanämie, anderen hämolytischen Anämien, bei Thrombozytopenien, myeloproliferativen Erkrankungen, beim Felty-Syndrom und bei malignen Lymphomen wird sie teilweise mit gutem Erfolg angewendet (4). Durch Splenektomie ließ sich regelmäßig eine Normalisierung der Anämie, der Thrombopenie und der Neutropenie bei der Haarzell-Leukämie erreichen. Die erhöhte Infektanfälligkeit konnte jedoch nicht beeinflußt werden (51).

1.4.2 Veränderungen der Blutzellen nach Splenektomie

Bei 90 % der splenektomierten Patienten finden sich sog. Howell-Jolly-Körperchen, die Reste des verschwindenden Zellkerns im Protoplasma der Erythrozyten darstellen. Außerdem sind die Siderozyten, d. h. Erythrozyten, in denen kleine Eisenteilchen nachgewiesen werden können (mit Berliner-Blau-Reaktion) vermehrt. Heinz-Innenkörper werden häufiger nachgewiesen und die osmotische Resistenz der Erythrozyten ist erhöht (4).

Postoperativ kommt es regelmäßig zu einem Leukozytenanstieg, wobei hauptsächlich die neutrophilen Granulozyten betroffen sind. Dieser normalisiert sich jedoch in den meisten Fällen wieder.

Es kommt zu einem Thrombozytenanstieg, der seinen Höhepunkt einige Tage nach der Splenektomie erreicht. Die Blutplättchen fallen dann entweder wieder auf den Normalspiegel ab, oder sie bleiben leicht erhöht (4). Aber selbst bei Thrombozytenzahlen über $1\,000\,000/\text{mm}^2$ wurde kein erhöhtes Risiko einer venösen Thrombose im Vergleich zu Normalpersonen gefunden (14). Es kommt zu einer Erhöhung der Blutviskosität, was Ursache für ein erhöhtes Risiko, an einer koronaren Herzkrankheit zu erkranken, sein kann (49).

Bei Veteranen des 2. Weltkrieges, die wegen eines Traumas splenektomiert wurden, konnte eine signifikant höhere Mortalität durch Pneumonien und koronare Herzkrankheit festgestellt werden (50).

1.4.3 Erhöhte Infektionsgefahr

Nach Splenektomie wird in vielen Einzelarbeiten von einer erhöhten Infektanfälligkeit berichtet. Diese ist unterschiedlich zu bewerten. So haben schwere bakterielle Infekte, die bei Kleinkindern nach Splenektomie, die im ersten Lebensjahr wegen einer kongenitalen Sphärozytose durchgeführt wurde, auftraten, eine Letalität von bis zu 50 % (30). Dieses als OPSI (overwhelming post splenectomy infection) definierte Krankheitsbild zeichnet sich durch eine Hypotonie, Fieber und einer disseminierten intravasalen Gerinnung aus und endet in 12 bis 24 Stunden letal. OPSI wird in 50 % der Fälle von *Streptococcus pneumoniae* verursacht (58). Weitere Erreger sind *Hämophilus influenzae*, Klebsiellen, Salmonellen, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Neisseria meningitidis*. Es wird von einer verminderten Fähigkeit, eine gramnegative Bakteriämie 17 Jahre nach Splenektomie zu bekämpfen, berichtet (57).

Die Piroplasmose, eine bei Tieren häufige Zoonose, wurde bisher nur bei splenektomierten Patienten beobachtet (4). Auch die Infektion mit dem Hepatitisvirus stellt für den Splenektomierten ein sehr gefährliches Ereignis mit einem hohen Mortalitätsrisiko dar (4). In Tierversuchen fand man bereits 1919 eine fünfmal höhere Mortalität bei splenektomierten Ratten als bei scheinoperierten (39).

In einer großen Studie wurden 2795 Patienten nach Splenektomie wegen aller möglichen Ursachen beobachtet, wobei sich eine Sepsisinzidenz von 4,25 % mit einer Mortalität von 2,52 % ergab (58). Bei Patienten, die als Erwachsene splenektomiert wurden, ist die Letalität nach bakteriellen Infekten also geringer. In einer weiteren Studie, bei der 187 Erwachsene wegen einer Milzruptur splenektomiert wurden, wurde innerhalb von 45 Monaten postoperativ die Inzidenz einer letalen Sepsis von 2,2 % beobachtet. Diese Inzidenz ist 440fach größer als epidemiologisch erwartet werden kann (16).

Dies widerspricht der Meinung, daß bei Erwachsenen nach posttraumatisch notwendig werdender Splenektomie, keine erhöhte Infektanfälligkeit, abgesehen von postoperativen Pneumonien, gesehen werden kann (4). Deshalb wird von manchen Autoren eine Impfung mit Pneumokokkenvakzine nach Splenektomie auch bei Erwachsenen empfohlen (60). Auch im Tierexperiment zeigte sich bei splenektomierten Ratten eine 2000fach größere Empfindlichkeit gegen Pneumokokken als bei normalen Tieren (22).

Auch die postoperative Infektionsgefahr ist nach Splenektomie erheblich vergrößert. Die Frequenz subphrenischer Abszesse nach Magenausschaltungsoperationen wegen Adipositas steigt im Falle einer Milzentfernung von 2 % auf 30 % (54). Die Häufigkeit pulmonaler Komplikationen postoperativ steigt von 3,3 % bei traumatischen Patienten auf 26 % bei zusätzlich splenektomierten Patienten. Auch die Wund- und Abdominalinfektionen nehmen um 8 % zu (59).

1.4.4 Veränderungen am Immunsystem

Die Splenektomie bedeutet einen Verlust von 1/4 des gesamten retikuloendothelialen Systems und eines Drittels des lymphatischen Gewebes (5). Es kommt zum IgM-Abfall und zum IgA-Anstieg (12, 13). Auch der IgG- und IgM-Anstieg nach Impfungen mit polyvalenter Pneumokokkenvakzine ist beim Splenektomierten erheblich vermindert (28, 46).

Die chemotaktische Aktivität der Leukozyten (Leukotaxis) ist vermindert, statistisch zeigt sich jedoch keine Signifikanz (16). Die Antwort der T-Zellen auf eine Stimulation mit Phytohämagglutinin bei Patienten, 30 Tage nach Splenektomie, war ebenfalls stark vermindert (64).

Daraus ergibt sich eine erhebliche Schwächung des Immunsystems nach Splenektomie, die die Frage nach Alternativen aufwirft.

1.5 Alternativen zur Splenektomie

Die beschriebenen, schwerwiegenden Folgen der Splenektomie machen es verständlich, daß Alternativen gesucht wurden. Diese bestehen entweder aus einer Teilresektion, die wegen der großen Blutungsgefahr problematisch sein kann oder aus einer Splenektomie mit anschließender autologer Transplantation von Milzpartikeln, wobei die Milz den Anschluß an ihr ursprüngliches Gefäßsystem verliert.

1.5.1 Teilresektion der Milz

Schon Mitte des letzten Jahrhunderts wurde die Segmentresektion der Milz bei einer großen Milzzyste beschrieben, die jedoch wegen fehlender Hämostasetechniken nicht erfolgreich war (43). 1910 gelang die Naht einer durch eine Schußverletzung zertrümmerten Milz (37). Dennoch blieb die Teilresektion der Milz wegen der großen Schwierigkeiten der sicheren Blutstillung eine Seltenheit. Erst mit der Entwicklung besserer Methoden kommt sie häufiger in Frage.

1.5.1.1 Indikationen und Kontraindikationen

Die Erhaltung der Milz an orthotoper Stelle wird bei verschiedenen Indikationen empfohlen: Gutartige Tumoren der Milz, die traumatische Ruptur der Kapsel, wobei das Organ nicht völlig zerstört sein darf, die Stagingoperation bei Morbus Hodgkin (52), der Morbus Gaucher (38) und vor allem das jugendliche Alter eines traumatisierten Patienten (20). Als Kontraindikationen werden ein schockierter Patient, die extensive Milzfragmentation, die hiläre Milzverletzung, die Unmöglichkeit der intraoperativen Hämostase, die Peritonitis und die Ruptur einer erkrankten Milz genannt (63).

1.5.1.2 Techniken der Teilresektion

Entscheidend für das Gelingen der Teilresektion ist die erfolgreiche Blutstillung. Hier sind verschiedene Verfahren zur Anwendung gekommen: Die Fibrinklebung wurde bei 21 traumatisierten und bei 37, durch eine akzidentelle intraoperative Milzverletzung betroffenen Patienten ohne Mobilisierung des Organs in 76 % bzw. 85 % aller Fälle erfolgreich angewendet (54). Tiefe Nähte mit Silastic-Streifen in Milzkapsel und -parenchym ergaben bei Affen und Hunden gute Ergebnisse (53). Außerdem wurde die Anwendung von Metallclips und Matratzennähten über Gelatinschwämmen (Gelfoam) und Kollagenmikrofibrillen (Avitene) empfohlen (38). Wir führten die Blutstillung mit einem Infrarotkoagulator durch. Diese Methode hat den Vorteil, auch auf heftig blutenden Wundflächen die Blutung sicher zu versorgen. Bei den Fibrinklebern und den Kollagenpräparaten müssen die Wundflächen zumindest vorübergehend trocken gehalten werden. Der Infrarotkoagulator wird bereits routinemäßig in der Abdominal- (Leber, Milz) und Thoraxchirurgie (Lunge) eingesetzt. Die Notwendigkeit der Splenektomie bei akzidentellen, intraoperativen Verletzungen der Milz konnte auf ein Fünftel gesenkt werden (24).

1.5.1.2.1 Infrarotkoagulation

Das Licht einer Wolfram-Halogenlampe (12 Volt, 120 - 150 Watt) wird in einem starren Quarzlichtleiter mittels eines goldbeschichteten Reflektors fokussiert. Der Lichtleiter hat einen Durchmesser von 10 mm, die Emissionsleistung beträgt 40 Watt pro cm^2 . Am Ende des Lichtleiters ist ein abschraubbbares, lichtdurchlässiges Köppchen aus Fluorpolyäthylen befestigt. Das Gerät ist gassterilisierbar, hat einen Handschalter und wird an ein Netzgerät angeschlossen. Die Dauer des Lichtimpulses kann am Netzgerät zwischen 0,5 und 3 Sekunden eingestellt werden. Neuere Koagulatoren sind mit Saphir-Einkristallen ausgerüstet, die wegen der hohen Wärmeleitfähigkeit, des hohen Schmelzpunktes und der Kratzfestigkeit Vorteile gegenüber dem Teflonköppchen besitzen.

Die zu koagulierende Wundfläche sollte eben und so für die Andruckfläche des Koagulators gut erreichbar sein. Durch das Andrücken wird aus dem Parenchym tretendes Blut verdrängt, die blutenden Gefäße werden kurzzeitig komprimiert. Der Lichtimpuls wird vom Gewebe absorbiert, in Wärme umgewandelt und bewirkt so die Koagulation (29). Diese Methode ist im Tierversuch und klinisch erprobt (67).

1.5.2 Autotransplantation von Milzgewebe

Die Autotransplantation von Milzgewebe wurde bereits am Anfang dieses Jahrhunderts im Tierexperiment erprobt, wobei festgestellt wurde, daß die Regeneration von subcutan autotransplantiertem Milzgewebe beim Kaninchen vom Alter des Tieres und der Vollständigkeit der Splenektomie abhängig ist (36). Außerdem wurde die Übernahme von Abwehrfunktionen durch das autotransplantierte Milzgewebe postuliert (39). Die Regenerationsfähigkeit von autotransplantiertem Milzgewebe wurde von anderen Autoren in 88 % der Fälle histologisch gesichert (10).

Die heterotope Autotransplantation ist die Imitation eines natürlichen Phänomens, der "Splenosis Peritonei", die erstmals 1896 beschrieben wurde (2) und weit häufiger ist als bisher vermutet. 54 % von 72 splenektomierten Patienten hatten eine positive Milzszintigraphie und normale Tuftsinspiegel. Diese Tatsachen erlaubten die Diagnose von Nebenmilzen oder einer Splenosis Peritonei (42). Von anderen Autoren wurde eine relativ niedrige Sepsisrate nach Splenektomie wegen einer traumatisierten Milz im Vergleich zur elektiven Splenektomie festgestellt. Auch in diesen Fällen vermutete man eine Splenosis Peritonei (44).

1.5.2.1 Indikationen

Die Autotransplantation, die eines operativen Mehraufwands von ca. 10 Minuten bedarf, ist dann empfehlenswert, wenn eine orthotope Organerhaltung wegen einer Kontraindikation (siehe 1.5.1.1) nicht möglich ist (55).

Auch beim Staging des Morbus Hodgkin kann die Autotransplantation eine Alternative zur Splenektomie bieten. Erfahrene Pathologen haben eine 99 %-Sicherheit erreicht, Hodgkin-Herde mit bloßem Auge zu diagnostizieren. Falls keine verdächtigen Bezirke erkennbar sind, kann ein Teil des Organs wieder implantiert werden (55).

1.5.2.2 Techniken der Autotransplantation

Am besten hat sich die Implantation von Milzpartikeln, mit einem Gewicht von nicht mehr als 100 mg und einer Größe von 2 - 3 mm, bewährt. Das Gewicht des resultierenden Milzgewebes, das histologisch nicht von einer normalen Milz zu unterscheiden ist, steht dann in einem linearen Verhältnis zum Gewicht des Implantats (61).

Nach Splenektomie wird das Organ in 2 - 3 größere Teile zerschnitten und entweder mit einer Raspel (56) oder mit dem Skalpell (1) zerrieben. Das Milzgewebe wird dann dünn auf dem ausgebreiteten großen Netz ausgestrichen. Daraufhin wird das große Netz zusammengerollt und durch Einzelknopfnähte verschlossen, so daß das Milzgewebe vollständig umhüllt ist (56). Bei einer anderen Methode näht man das Milzgewebe in präformierte, walzenförmige Peritonealtaschen ein (1).

2. Material und Methoden

2.1 Gruppeneinteilungen für die LD-50-Bestimmungen

50 männliche und weibliche Mäuse des Stammes C3H, mit einem durchschnittlichen Gewicht von 27 g, wurden in 5 Gruppen à 10 Tiere aufgeteilt und mit folgenden Lipopolysaccharidmengen belastet (Lipopolysaccharid B, *Escherichia coli*, 026 : B6):

Gruppe	Lipopolysaccharidmenge (in mgE./kg Körpergewicht)
1	0,001
2	0,01
3	0,1
4	1,0
5	10,0

20 weibliche und männliche Sprague-Dawley-Ratten mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 250 g wurden in 2 Gruppen à 10 Tiere aufgeteilt und mit folgenden Endotoxinmengen belastet:

Gruppe	Lipopolysaccharidmenge in mgE./kg Körpergewicht
1	1,0
2	10,0

2.1.1 LD-50-Bestimmung

Um die Lipopolysaccharidbelastbarkeit nach milzerhaltenden Operationen bzw. Splenektomie bei Ratten vergleichen zu können, bestimmten wir die ungefähre LD-50 dieses Endotoxins, die dann in den folgenden Versuchen eingesetzt wurde. Die Letalität wurde 24 und 72 Stunden nach i.p.-Verabreichung festgestellt. Zunächst wurde die LD-50 bei Mäusen bestimmt, um für die Rattenversuche eine Dosisorientierung zu besitzen.

2.1.1.1 Lipopolysaccharid B, *Escherichia coli*

Bei allen Versuchen der vorliegenden Studie wurde mit Lipopolysaccharid B, *Escherichia coli* 026 : B6, Control Nr. 708944 der Firma Difco Lab. Detroit, Michigan, USA, gearbeitet. Das Lipopolysaccharid wurde nach einer von Boivin beschriebenen Methode gewonnen (7). Es wurde mit physiologischer NaCl-Lösung auf eine Konzentration von 10 mg/ml eingestellt. Lipopolysaccharide sind Zellwandbestandteile gramnegativer Bakterien. Sie bestehen aus einem antigen-wirksamen Polysaccharid, einem den Kern des Moleküls bildenden Polysaccharid und der Lipidkomponente, dem sog. Lipid A. Sie sind Bestandteil des Endotoxins, das zusätzlich noch einen Proteinanteil enthält.

2.1.1.2 Verabreichung des Lipopolysaccharids

Wir injizierten das Lipopolysaccharid in verschiedenen Konzentrationen immer intraperitoneal. Bei den Mäuseversuchen verwendeten wir auf ein Volumen von 1 ml/Tier mit 0,9 % NaCl-Lösung verdünntes Lipopolysaccharid, die Ratten wurden mit 1 ml verdünntem Lipopolysaccharid / 100 g Körpergewicht belastet.

2.2 Gruppeneinteilungen für die Lipolysaccharidbelastung

184 männliche und weibliche Sprague-Dawley-Ratten mit einem durchschnittlichen Gewicht von 313 g wurden in 6 Gruppen eingeteilt, wobei darauf geachtet wurde, daß die Anzahl der männlichen und weiblichen Tiere in den einzelnen Gruppen annähernd gleich groß war.

Tab. 1:	Gruppe	Operation	Beobachtungszeitraum (n)	
			6 Wochen	6 Monate
	1	nicht operierte Kontrolltiere	12	12
	2	Scheinoperation	12	23
	3	Splenektomie	12	22
	4	Autotransplantation ins große Netz	16	19
	5	Autotransplantation in die Bauchwand	14	10
	6	2/3-Resektion	12	20

2.2.1 Operatives Vorgehen

Die Ratten wurden mit 1 ml/100 g Körpergewicht 3,6 % Chloralhydrat (Apotheke der Uniklinik Innenstadt) narkotisiert. Die Gruppen 2 - 6 wurden am Bauch rasiert und mit Batticon (Trommsdorff, Aachen) gewaschen. Das Abdomen wurde durch einen ca. 3 cm langen medianen Oberbauchschnitt eröffnet und nach Eröffnung des Peritoneums und Ausführung der geplanten Milzoperation mit durchgreifender, fortlaufender Naht (Vicryl 3-0) verschlossen.

Bei Gruppe 3 wurde die Milz nach Mobilisierung und Ligatur der versorgenden Gefäße (Vicryl 5-0) entfernt. (Bild 1)

Bild 1:



Die Tiere der Gruppe 4 wurden wie Gruppe 3 splenektomiert. Etwa $\frac{1}{3}$ des Organs wurde mit dem Skalpell zerrieben (Bild 2) und in eine Tasche des großen Netzes eingenäht (Vicryl 4-0).

Bild 2:



Bei Gruppe 5 wurde $\frac{1}{3}$ des zerriebenen Organs in eine subperitoneale Tasche der lateralen Bauchwand genäht (Vicryl 4-0).

Die Milz der Tiere der Gruppe 6 wurde nach Ligatur der den oberen und unteren Pol versorgenden Gefäße (Vicryl 5-0) zu etwa $\frac{2}{3}$ reseziert, wobei das mittlere Drittel am Hilus erhalten blieb. Die Blutstillung an den Wundrändern wurde mit einem Infrarotkoagulator durchgeführt. (Bild 3)

Bild 3:

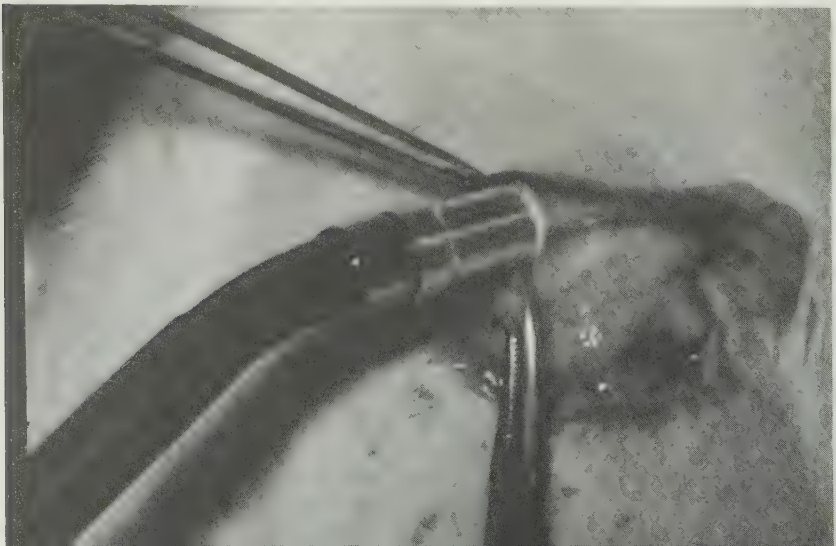
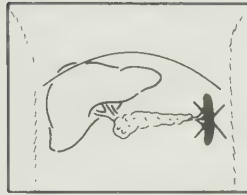


Bild 4:

MILZEINGRIFFE



Splenektomie

MILZERHALTENDE OPERATIONEN



$\frac{2}{3}$ -Resektion u. JRC

**Autotransplantation
ins große Netz**

**Autotransplantation
in die laterale Bauch-
wand.**

2.2.2 Blutbild- und Gewichtskontrollen

Die Blutbilduntersuchungen dienten der Darstellung von Veränderungen der Thrombozyten- und Leukozytenzahl. Die Gewichtskontrollen sollten über den Gesundheitszustand und den Heilungsverlauf Auskunft geben. Diese Untersuchungen wurden bei den Ratten, die wir 6 Wochen lang beobachteten, alle 2 Wochen präoperativ durchgeführt, bei den anderen alle 4 Wochen postoperativ.

Die Blutentnahme erfolgte in einer kurzen Äthernarkose aus der Schwanzvene. Die Bestimmung der Leukozyten erfolgte mittels eines "Coulter Counters" (Coulter Electronics, Luton, England), die Thrombozyten wurden in einem "Platelet Analyzer" (Baker Electronics, USA) ausgezählt.

Das Gewicht der Tiere bestimmten wir mit einer elektronischen Waage (Sartorius 1265 MP).

2.2.3 Lipopolysaccharidbelastung

Die Ratten der Gruppen 1 - 6 wurden 6 Wochen bzw. 6 Monate postoperativ mit der LD-50 des Lipopolysaccharids (siehe 3.1) belastet. Die Letalität stellte man 24 bzw. 72 Stunden nach den intraperitonealen Injektionen fest.

2.3 Gruppeneinteilung für die szintigraphischen Untersuchungen

39 männliche und weibliche Sprague-Dawley Ratten wurden zu gleichen Teilen in 5 Gruppen eingeteilt:

Tab. 2:	Gruppe	Operation	Anzahl
	1	Scheinoperation	7
	2	Splenektomie	5
	3	Autotransplantation ins große Netz	7
	4	Autotransplantation in die Bauchwand	12
	5	2/3-Resektion	8

2.3.1 Operatives Vorgehen

Die Operationen führten wir, wie unter 2.2.1 beschrieben, durch.

2.3.2 Szintigraphische Untersuchung

Die Ratten belasteten wir 6 Wochen nach den Operationen mit 1 mg Lipopolysaccharid intraperitoneal. Dies entsprach etwa 10 % der zuvor bestimmten LD-50 (siehe 3.1). Alle Ratten überlebten diese Lipopolysaccharidmenge.

Weitere 2 Wochen später untersuchte man die Speicherung von mit Technetium 99 m markierten, wärmegeschädigten, autologen Erythrozyten in den Organen Herz, Lunge, Niere, Leber, Milz und im Blut.

2.3.2.1 Blutgewinnung

Die Ratten wurden mit 1 ml/100 g Körpergewicht 3,6 % Chloralhydrat, intraperitoneal narkotisiert. Nach Rasur und Desinfektion des Halses mit Betaisadon wurde eine etwa 1 cm lange, quere Hautinzision auf der Ventralseite von medial nach lateral rechts vorgenommen. Wir präparierten die Vena jugularis rechts und eröffneten diese mit einer kleinen Inzision. Anschließend wurde ein ca. 0,8 mm starker Silikonschlauch bis in Höhe der Vena cava superior vorgeschoben. Auf diese Weise konnten wir ohne weiteres 1 ml Blut entnehmen, das mit 0,1 ml Heparin versetzt wurde. Der Katheter wurde mit einer Naht in der Vena jugularis fixiert.

2.3.2.2 Markierung und Wärmeschädigung der Erythrozyten

Die Markierung und Wärmeschädigung der Erythrozyten erfolgte nach der Gebrauchsinformation von Tecemin S (19).

2.3.2.3 Reinfusion und szintigraphische Messung

Die markierten Erythrozyten wurden über den noch liegenden Jugulariskatheter reinfundiert. Nach einer Zirkulationszeit von 2 Stunden wurden die Ratten mit einer intramuskulären Injektion von T 61, ad. us. vet., Fa. Hoechst, getötet.

Proben der oben angeführten Organe wurden, genau abgewogen, in 10 ml fassende Plastikröhrchen gegeben. Nach Zugabe von 5 ml Aqua destillata konnte die Radioaktivität in einem Szintillationszähler nach etablierter Methode bestimmt werden.

2.3.2.4 Berechnung der Aktivität

Die erhaltenen counts/min. konnten auf 1 g des jeweiligen Gewebes umgerechnet und mit dem Referenzorgan Herzmuskel verglichen werden. Dabei setzten wir die Aktivität 1 g . min des Herzmuskels gleich 1 und beschrieben die Aktivität der anderen Organe als einen Faktor der Herzmuskelaktivität.

2.4 Gruppeneinteilung für Antikörpermessung und Chemotaxis

21 weibliche Neuseeländer-Kaninchen wurden in 5 Gruppen aufgeteilt:

Tab. 3:	Gruppe	Anzahl	operatives Vorgehen
	1	2	keines
	2	4	Scheinoperation
	3	5	Splenektomie
	4	5	Autotransplantation in das große Netz
	5	5	2/3-Resektion der Milz

Postoperativ verstarben je 1 Tier aus den Gruppen 3, 4 und 5.

2.4.1 Operatives Vorgehen

Die Kaninchen wurden mit 90 mg Ketavet^R/kg Körpergewicht (Parke-Davis, München) und 0,3 ml Rompun^R (Bayer Leverkusen) narkotisiert. Die Gruppen 2 - 5 wurden am Bauch rasiert und mit Betaisadon^R (Bayer Leverkusen) gewaschen. Das Abdomen wurde durch einen ca. 5 cm langen, linksseitigen Rippenbogenrand-schnitt eröffnet. Bei Gruppe 3 mobilisierten wir die Milz, ligierten die versorgenden Gefäße und entfernten das Organ. Bei Gruppe 4 wurde wie bei Gruppe 3 vorgegangen. Anschließend zerrieben wir 1/3 des entnommenen Organs mit dem Skalpell und nähten den Brei in eine Tasche des großen Netzes (Vicryl 4-0). Bei den Tieren der Gruppe 5 wurde nach Resektion des oberen und unteren Pols der Milz ca. 1/3 des Organs am Hilus belassen und die Wundränder mit dem beschriebenen Infrarotkoagulator verschorft. Bei allen Tieren wurde die Bauchwand mit 6 - 9 durchgreifenden Einzelknopfnähten (Vicryl 3-0) verschlossen und mit sterilen Kompressen verbunden.

2.4.2 Blutbild- und Gewichtskontrollen

Die folgenden Untersuchungen wurden präoperativ und dann alle 2 Wochen durchgeführt. Wir entnahmen das Blut aus der vorher gestauten Ohrvene mit einer 1 mm starken Kanüle. Anschließend wurden die Kaninchen gewogen. Die Bestimmung der Leukozyten und Thrombozyten erfolgte mit den gleichen Hilfsmitteln, die in 2.2.2 benützt wurden.

2.4.3 Impfungen

In dieser Versuchsreihe verwendeten wir das gleiche Lipopolysaccharid wie in den Rattenversuchen (2.1.1.1). Für die Impfungen verrührten wir 0,1 mg Endotoxin pro kg Körpergewicht mit 2 ml Alu-Gel-S Suspension (Serva Feinbiochemica, Heidelberg). Diese Suspension wurde dann mit Adjuvant Complete Freund (Difco. Lab., Detroit, USA) inkorporiert.

Den Kaninchen verabreichten wir 2 ml des Impfstoffes in ca. 20 Einstichstellen am Rücken intracutan, 2 ml injizierten wir intramuskulär im Glutäalbereich. Nach 4 bzw. 8 Wochen nahmen wir die 1. bzw. die 2. Boosterung vor. Bei den Boosterungen verwendeten wir kein Adjuvant Complete Freund. Das Serum für die Antikörperuntersuchungen entnahmen wir jeweils 2 Wochen nach der Impfung bzw. den Boosterungen.

Die Impfungen wurden, nachdem die Wundheilung abgeschlossen war, also ca. 2 - 3 Wochen nach den Operationen, vorgenommen.

2.4.4 Antikörpernachweis

Die zwei weiblichen Neuseeländer Kaninchen der Gruppe 1, mit einem Gewicht von je 2100 g, wurden mit einem Impfansatz, der 0,1 mg Lipopolysaccharid B pro kg Körpergewicht enthielt, nach dem Impfschema von 2.4.3 inokuliert. Nach 14 Tagen wurde ihnen Blut zur Untersuchung des Serums auf Antikörper gegen *Escherichia coli* entnommen, und mit der Immundiffusion nach Ouchterlony untersucht. Dieser Versuch sollte den Nachweis erbringen, daß überhaupt eine Antikörperbildung auf die Impfung hin einsetzt.

2.4.4.1 Materialien

Folgende Materialien wurden in diesem Versuch verwendet:

- Agarose (Apotheke der Uniklinik Innenstadt)
- Aqua destillata "
- Hirschfeldpuffer "
- 1 % Polyäthylenglykol (Merck, Darmstadt)
- Methylenblau (Merck, Darmstadt)
- Isotone Kochsalzlösung (Apotheke der Uniklinik Innenstadt)
- Glasplatten (10 x 10 cm)

2.4.4.2 Arbeitsanleitung

- Erhitzen und Anrühren von 1,8 g Agarose, 120 ml H_2O , 60 ml Hirschfeld-puffer, 1,8 g Polyäthylenglykol.
- 15 ml dieser Lösung werden auf die entfetteten Glasplatten gegossen.
- Mit einer Wasserpumpe werden 2 ml breite, kreisrunde Löcher ausgestanzt, wobei vier an den Ecken eines 1,5 x 1,5 cm großen Quadrates und eines in dessen Mitte angeordnet ist.
- Das mittlere Loch wird mit 10 μ l des Antigens Escherichia coli Lipopolysaccharid angefüllt.
- Die umliegenden Löcher werden mit Serum in absteigender Konzentration gefüllt, verdünnt mit 0,9 % NaCl-Lösung.
- Inkubation in einer feuchten Kammer im Brutschrank ($37^\circ C$) 24 Stunden.
- Wässerung in physiologischer Kochsalzlösung 24 Stunden.
- Trocknung im Brutschrank ($37^\circ C$).
- Färbung in Methylenblau.

2.4.5 Messung der Antikörperbildung

In dieser Versuchsreihe arbeiteten wir mit den in 2.4 beschriebenen Kaninchen-gruppen. Die Messungen des Antikörpertiters erfolgten mit einem Enzym-Immuno-assay (18). Die Messungen wurden immer als Doppelbestimmungen durchgeführt.

2.4.5.1 Materialien

- Dynatech Microelisa^R-Platten aus Immulon
- Photometer MR 600 von Dynatech, 492 nm
- Stammlösungen (eigene Herstellung; Chemikalien von Merck, Darmstadt)
 - A: 1,6 Na_2CO_3 ; 2,94 g $NaHCO_3$; 0,2 g NaN_3 und 1000 ml H_2O ;
pH 9,6
 - B: 80 g NaCl; 2 g KH_2PO_4 ; 14,4 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$; 2 g KCl;
5 g Tween 20 ad 1000 ml H_2O ; für Gebrauch 1: 10 mit H_2O verdünnen
 - C: 10 g Rinderserumalbumin (Sigma Chemical Co., P.O.Box 14508, St. Louis, Ma. 63178, USA) ad 500 ml verdünnte Stammlösung B
 - D: 10,5 g Zitronensäure; 11,4 g $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ ad 500 ml H_2O ;
pH 4,5

E: 0,2 g ABTS (Sigma) ad 10 ml H₂O

F: 1 ml 30 % H₂O₂ ad 50 ml H₂O

- Anti-Rabbit IgG (whole molecule) Peroxidase Conjugata, Lot No. 63 F-8910, Sigma Chemicals; Enzymaktivität: 3,1 purpurogallin units/ml
- Antigen: Lipopolysaccharid B, Escherichia coli, 026 : B6, Difco

2.4.5.2 Arbeitsanleitung

- Beschichtung der Microelisa-Platten mit je 200 µl/Kavität, immer als Doppelbestimmung, einer Verdünnung Puffer A und Lipopolysaccharid B.
- Platten über Nacht bei ca. 4 °C inkubieren.
- Platten mit verdünnter Stammlösung B waschen: 3 x 5 min. einwirken lassen und ausschütteln.
- Beschichtung der Platten (200 µl/Kavität) in Doppelbestimmung mit einer Verdünnung Stammlösung C und Antiserum, anschließend 2 h bei 37 °C inkubieren.
- Waschvorgang wiederholen (siehe oben).
- Beschichtung der Platten (200 µl/Kavität) mit einer Verdünnung von Stammlösung C und Anti-Rabbit IgG Peroxidase Conjugate, anschließend 3 h bei 37 °C inkubieren.
- Spülvorgang wiederholen.
- Beschichtung der Platten (200 µl/Kavität) mit Substrat: 9,5 ml 0 + 0,5 ml E + 0,2 ml F, anschließend 30 min bei 22 °C inkubieren.
- Im MR 600 Photometer ablesen.

2.4.5.3 Optimierung

Um mit diesem Test vergleichbare und wiederholbare Messungen des Antikörperverlaufs durchführen zu können, müssen die gemessenen Extinktionswerte in einem Bereich von 0 - 1,5 liegen. Dafür müssen sowohl die optimale Konzentration des Antigens (Lipopolysaccharid B, Escherichia coli), des Anti Rabbit IgG Peroxidase Conjugate als auch des Antiserums gefunden werden.

2.4.5.3.1 Optimale Konzentration von Conjugate und Antigen

Zunächst wurde mit der empfohlenen Verdünnung des Antiserums von 1 : 40 und des Konjugats von 1 : 1000, jeweils mit Stammlösung C und einer ansteigenden Verdünnung des Antigens von 2 mg/200 µl Stammlösung A in 1 : 2 Schritten, gearbeitet. Dabei wurde das Antigen bis auf 1 : 2⁴ verdünnt. Bei den photometrischen Messungen kam die Extinktion erst bei einer Antigenverdünnung von 1 : 2¹⁸ (= 7,6 mg · 10⁻⁶) auf bzw. knapp unter 1,5.

Deshalb wurde das Konjugat 1 : 1500 mit Puffer C verdünnt, die Antiserumverdünnung von 1 : 40 beibehalten und die Verdünnungsreihe des Antigens bei einer Konzentration von 1 : 2^{15} (= $6,1 \text{ mg} \times 10^{-5} / \text{ml}$ in Puffer A) begonnen.

Dabei ergab sich die optimale Konzentration des Antigens, mit der alle weiteren Versuche unternommen wurden. Die Antigenkonzentration/Kavität wurde auf logarithmisches Papier gegen die gemessenen Extinktionswerte aufgetragen, wobei für die Antigenmenge die Abszisse und für die Extinktionswerte die Ordinate gewählt wurde. Bei einer E von 1 hatte die sich ergebende Kurve ihren Wendepunkt. Die dazugehörige Antigenkonzentration, nämlich $3,4 \text{ mg} \times 10^{-6} / \text{ml}$ Puffer A wurde als die optimale Arbeitskonzentration angesehen.

Tab. 4:

[Antigen] mg/ml	$6,1 \times 10^{-5}$	$3,05 \times 10^{-5}$	$1,52 \times 10^{-5}$	$7,6 \times 10^{-6}$	$3,0 \times 10^{-6}$	$1,9 \times 10^{-6}$	$8,5 \times 10^{-7}$	$4,2 \times 10^{-7}$
E	1,5	1,5	1,481	1,270	1,209	0,681	0,562	0,492
[Antigen] mg/ml	$2,1 \times 10^{-7}$	$1,05 \times 10^{-7}$	$5,2 \times 10^{-8}$	$2,6 \times 10^{-8}$	$1,3 \times 10^{-8}$	$6,5 \times 10^{-9}$	$3,2 \times 10^{-9}$	$1,6 \times 10^{-9}$
E	0,326	0,255	0,225	0,152	0,117	0,035	0,030	0,019

2.4.5.3.2 Optimale Konzentration des Antiserums

Nachdem die optimalen Arbeitskonzentrationen des Antigens und des Konjugats gefunden waren, mußte diejenige Konzentration des Antiserums gefunden werden, bei der nach der 2. Boosterung der Kaninchen die Extinktionswerte gerade noch im Meßbereich, also bei E = 1,5 oder darunter lagen.

Wir füllten die Kavitäten mit $3,4 \times 10^{-6} \text{ mg}$ Antigen in 200 μl Puffer A, die Verdünnung des Konjugats mit Puffer C blieb bei 1 : 1500. Vom Antiserum wurde diesmal eine Verdünnungsreihe hergestellt, die mit 200 μl unverdünntem Antiserum begann und dann in absteigenden Schritten immer 1 : 2 mit Puffer C verdünnt wurde. Für diese Testung verwendeten wir die Seren der Kaninchen aus Gruppe 1 (siehe Tabelle 3).

So konnten wir die Konzentration des Serums, bei der nach der 2. Boosterung E gerade noch 1,5 war, aus der Tabelle ablesen. Sie liegt bei 15,5 mg Antiserum pro ml Puffer C. Bei den folgenden Messungen wurde mit dieser höchsten Antiserumkonzentration begonnen. Die Kavitäten wurden dann nach folgendem Pipettierschema bestückt:

Tab. 5:

Kavität	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
/AS/ mg/ml	15,5	7,75	3,9	1,9	0,97	0,48	0,24	0,12	0,06	0,03

Tab. 6: [AS] in mg/ml gegen Extinktion des Nullserums, nach 1. Impfung,
nach 1. und 2. Boosterung

[AS]	1000	500	250	125	62,5	31,3	15,5	7,75	3,9	1,93	0,97	0,48	0,24	0,12	0,06	0,03
E: Nullserum	0,808	0,677	0,506	0,495	0,430	0,340	0,323	0,234	0,170	0,110	0,063	0,092	0,034	0,023	0,012	0,004
+ -	0,136	0,110	0,133	0,131	0,082	0,094	0,082	0,042	0,021	0,012	0,032	0,021	0,011	0,004	0,008	0,002
E: 1. Impfung	1,005	0,933	0,900	0,720	0,640	0,430	0,380	0,305	0,252	0,201	0,147	0,111	0,072	0,034	0,017	0,005
	0,184	0,191	0,183	0,037	0,054	0,042	0,038	0,044	0,019	0,021	0,009	0,012	0,004	0,007	0,001	0,000
E: 1. Boost.	1,275	1,220	1,140	0,980	0,820	0,720	0,762	0,593	0,431	0,385	0,340	0,275	0,188	0,173	0,185	0,162
	0,202	0,07	0,14	0,07	0,05	0,05	0,097	0,081	0,044	0,084	0,056	0,024	0,041	0,032	0,042	0,041
E: 2. Boost.	>1,5	>1,5	>1,5	>1,5	>1,5	>1,5	>1,5	1,501	1,405	1,390	1,267	0,871	0,438	0,287	0,219	0,167
	-	-	-	-	-	-	-	0,271	0,225	0,182	0,153	0,141	0,085	0,051	0,030	0,042

2.4.6 Chemotaxisuntersuchung

Für diese Untersuchung wurde ebenfalls Blut von den Kaninchen der Gruppe 1 -4 verwendet. Es wurde vor den Operationen, eine, vier und acht Wochen postoperativ abgenommen und sofort nach folgender Arbeitsanleitung untersucht. Bei jeder Untersuchung wurden eine Kontrolle ohne chemotaktischem Reizserum (mit HBSS) und eine Analyse mit chemotaktischem Reizserum durchgeführt. Dabei durchwandern neutrophile Granulozyten einen Filter mit einer Porengröße von 3 µm aktiv und können dann auf der anderen Seite des Filters ausgezählt werden (11).

2.4.6.1 Materialien

- Boydenkammer (Schleicher und Schüll, 3354 Dassel)
- Membranfilter AE 97 (3 µm) (Schleicher und Schüll, 3354 Dassel)
- Hanks balanced salt solution (eigene Herstellung)
- chemotaktisches Reizserum: 50 % Kaninchenserum, 10 % Lipopolysaccharid (Escherichia coli) 10 mg/ml, 40 % HBSS
- heparinisierte Blutröhrchen
- Neo Plasmagel (Braun, Melsungen)
- Ficoll-Paque (Pharmacia Fine Chemicals)
- silikonisierte Glasröhrchen
- Coulter Counter (Coulter Electronics, England)

2.4.6.2 Arbeitsanleitung

- Abnahme von 10 ml Blut aus der Ohrvene der Kaninchen in ein heparinisiertes Röhrchen, Zugabe von 2 ml Neo Plasmagel.
- Sedimentation im Inkubator bei 37 °C, ca. 60 Sek.
- Überstand auf Ficoll-Paque in silikonisiertes Glasröhrchen pipettieren, im Verhältnis 2 : 1
- 20 Sek. bei 22 °C und 800 g zentrifugieren.
- Bodensatz in 10 ml HBSS waschen, 10 Sek. bei 22 °C und 400 g zentrifugieren, Bodensatz in 2 ml HBSS resuspendieren (= Granulozytenlösung).
- Eine untere Boydenkammer mit 1 ml HBSS füllen (Kontrolle), eine andere mit 1 ml chemotaktischem Reizserum füllen (Analyse).
- Filterpapier einschrauben, nachdem die Oberseite markiert wurde.
- Zellzahl in Granulozytenlösung bestimmen (Coulter Counter) und die obere Boydenkammer mit 1 ml füllen.
Dabei ergab sich eine Zellzahl von $2 - 4 \times 10^{-6}$ /ml, von denen 70 - 90 % PNM waren.
- 3 Stunden bei 37 °C inkubieren.

- Filter ausbauen, in Methanol fixieren, färben.
Anleitung: 2 Min. in Hämatoxylin legen,
in H_2O waschen, 30 Sek. in Äthanol 70 % legen,
in H_2O waschen, 2 Min. in blueing agent legen,
in H_2O waschen, 30 Sek. in Propanol 70 % legen,
30 Sek. in Propanol 95 % legen, 7 Min. in Propanol 100 % legen,
4 Min. in Xylol legen.
- Filter mit Unterseite nach oben auf Objektträger fixieren.
- 10 Felder bei 400facher Vergrößerung auszählen.

3. Ergebnisse

3.1 LD-50-Bestimmungen

3.1.1 Mäuse

Tab. 7:	Gruppe	Dosierung (mg/kg)	Letalität (24 h)	Letalität (72 h)
	1	0,001	0 %	0 %
	2	0,01	0 %	0 %
	3	0,1	0 %	0 %
	4	1,0	0 %	0 %
	5	10,0	70 %	90 %

Von den 40 Tieren der Gruppen 1 - 4, die mit einer Lipopolysacchariddosis von 0,001 - 1,0 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal belastet wurden, verstarb kein einziges innerhalb der Beobachtungszeit von 24 - 72 Stunden. Dagegen konnte bei Gruppe 5, in der 10 mg Lipopolysaccharid B pro kg Körpergewicht intraperitoneal verabreicht wurden, eine Letalität von 70 % nach 24 Stunden bzw. 90 % nach 72 Stunden festgestellt werden (Tab. 7).

3.1.2 Ratten

Unter Berücksichtigung dieses Ergebnisses erhielten die 20 Ratten der Gruppen 1 und 2 1,0 bzw. 10,0 mg Lipopolysaccharid B pro kg Körpergewicht. Dabei verstarb keine einzige Ratte der Gruppe 1, jedoch 6 Ratten der Gruppe 2 nach 24 bzw. 72 Stunden (Tab. 8).

Tab. 8:	Gruppe	Dosierung (mg/kg)	Letalität (24 h)	Letalität (72 h)
	1	1,0	0 %	0 %
	2	10,0	60 %	60 %

Die LD-50 durch Lipopolysaccharid B liegt also bei den verwendeten Ratten nahe bei einer Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht. Diese Konzentration wurde bei der Lipopolysaccharidbelastbarkeit verwendet.

3.2 Ergebnisse der Verlaufskontrollen und der Lipopolysaccharidbelastbarkeit bei der Ratte

3.2.1 Thrombozytenzahlen in G/l nach Splenektomie und milzerhaltenden Operationen, Mittelwerte und Standardabweichungen

Tabelle 9 zeigt die Thrombozytenzahl der Ratten, die über 6 Wochen beobachtet wurden. Die Gruppen bestanden aus 12 - 16 Sprague-Dawley-Ratten (siehe 2.2 Tab. 1). In den nicht operierten Kontrolltieren (Gruppe 1) und den scheinoperierten Tieren (Gruppe 2) nahm die Zahl der Thrombozyten kaum zu. Bei allen Tieren, die an der Milz operiert wurden, zeigte sich 14 Tage postoperativ ein erheblicher Thrombozytenanstieg ($p < 0,05$, Tab. 9), der bei Gruppe 3 (Splenektomie) und Gruppe 5 (Autotransplantation in die Bauchwand) am größten war.

Tab. 9: Beobachtungszeitraum 6 Wochen

Gruppe	präoperativ	nach 14 Tagen	nach 28 Tagen
1	593 ± 136	664 ± 148	607 ± 102
2	700 ± 278	954 ± 400	962 ± 296
3	667 ± 198	1181 ± 359	953 ± 342
4	538 ± 178	1069 ± 399	954 ± 258
5	602 ± 159	1145 ± 322	888 ± 234
6	645 ± 242	929 ± 367	1193 ± 220

Dieses Ergebnis wurde bei den Ratten, die 6 Monate beobachtet wurden, bestätigt. Die Gruppen bestanden aus 12 - 23 Tieren (siehe 2.2, Tab. 1). Der Thrombozytenanstieg erreichte bei Gruppe 3 (Splenektomie), Gruppe 4 (Autotransplantation ins große Netz), Gruppe 5 (Autotransplantation in die Bauchwand) und Gruppe 6 (2/3-Resektion) 14 Tage bzw. 1 Monat postoperativ die höchsten Werte. Sie fielen im Verlauf von weiteren 5 Monaten bei den Gruppen 3, 4 und 5 leicht ab, erreichten jedoch nicht die präoperativen Ausgangswerte. Bei Gruppe 6 gingen die Thrombozytenwerte nach 2 Monaten auf das Anfangsniveau zurück, um jedoch nach 5 Monaten wieder anzusteigen (Tab. 10).

Tab. 10: Beobachtungszeitraum 6 Monate
Monate

Gruppe	0	1/2	1	2	3	4	5	6
1	545	580	508	614	692	513	564	558
	± 131	± 124	± 95	± 117	± 185	± 161	± 137	± 143
2	652	636	704	604	695	806	606	751
	± 147	± 186	± 212	± 124	± 200	± 262	± 144	± 162
3	578	1082	952	763	723	694	712	748
	± 204	± 306	± 288	± 190	± 162	± 172	± 150	± 181
4	498	708	783	814	797	846	803	774
	± 87	± 204	± 206	± 193	± 224	± 251	± 307	± 256
5	533	966	1015	872	904	836	921	821
	± 126	± 275	± 336	± 308	± 292	± 262	± 302	± 268
6	592	952	987	632	608	533	793	806
	± 98	± 272	± 242	± 136	± 170	± 128	± 211	± 224

3.2.2 Gewichtsverläufe nach Splenektomie und milzerhaltenden Operationen, Mittelwerte und Standardabweichungen

Tabelle 11 zeigt die Mittelwerte des Gewichts der einzelnen Ratten vor und nach den Operationen. Die Ratten wogen 14 Tage postoperativ im Durchschnitt 14 g weniger als vor den Operationen. 28 Tage postoperativ hatten alle Ratten im Durchschnitt 9 g im Vergleich zum Ausgangswert zugenommen. Die nicht operierten Kontrolltiere nahmen stetig um insgesamt 43 g in 4 Wochen zu.

Tab. 11: Beobachtungszeitraum 6 Wochen

Gruppe	präoperativ	nach 14 Tagen	nach 28 Tagen
1	312 g ±35 g	327 g ±39 g	355 g ±45 g
2	305 g ±47 g	295 g ±44 g	320 g ±52 g
3	330 g ±52 g	315 g ±36 g	336 g ±48 g
4	312 g ±36 g	297 g ±39 g	315 g ±42 g
5	296 g ±44 g	285 g ±38 g	308 g ±36 g
6	324 g ±41 g	307 g ±46 g	331 g ±53 g

In der nächsten Tabelle (Tab. 12) ist der durchschnittliche Gewichtsverlauf der Ratten, die über 6 Monate beobachtet wurden, beschrieben. Der postoperative Gewichtsverlust konnte ebenfalls dargestellt werden. Im Durchschnitt betrug er bei diesen Ratten 6 g. Nach einem Monat hatten alle operierten Ratten das Ausgangsgewicht um mindestens 7 g überschritten. 6 Monate nach den Operationen wogen die Ratten im Durchschnitt um 80 g mehr als präoperativ. Die nicht operierten Kontrolltiere der Gruppe 1 nahmen dagegen um 132 g zu.

Tab. 12: Beobachtungszeitraum 6 Monate

Gruppe	Monate							
	0	1/2	1	2	3	4	5	6
1	308 g	320 g	344 g	370 g	391 g	415 g	432 g	440 g
	± 37 g	± 39 g	± 42 g	± 32 g	± 38 g	± 44 g	± 37 g	± 31 g
2	315 g	320 g	342 g	361 g	370 g	378 g	392 g	415 g
	± 33 g	± 36 g	± 38 g	± 35 g	± 43 g	± 42 g	± 51 g	± 62 g
3	321 g	318 g	333 g	335 g	357 g	370 g	381 g	404 g
	± 28 g	± 32 g	± 37 g	± 42 g	± 37 g	± 47 g	± 43 g	± 51 g
4	335 g	325 g	342 g	349 g	362 g	398 g	409 g	420 g
	± 35 g	± 32 g	± 36 g	± 42 g	± 40 g	± 51 g	± 48 g	± 48 g
5	298 g	290 g	305 g	335 g	340 g	381 g	380 g	385 g
	± 30 g	± 31 g	± 27 g	± 30 g	± 37 g	± 35 g	± 43 g	± 45 g
6	303 g	300 g	321 g	335 g	340 g	350 g	365 g	370 g
	± 41 g	± 42 g	± 39 g	± 31 g	± 34 g	± 39 g	± 31 g	± 41 g

3.2.3 Leukozytenzahlen nach Splenektomie und milzerhaltenden Operationen, Mittelwerte und Standardabweichungen

Tabelle 13 zeigt die postoperative Zunahme der Leukozytenwerte. Von den Ausgangswerten stiegen die Werte 14 Tage nach den Operationen zum Teil beträchtlich an: Bei Gruppe 4 (Autotransplantation von Milzbrei in das große Netz) um fast 20000 von 8240 auf 27630. Bei Gruppe 2 (Scheinoperation) hatte sich die Leukozytenzahl nach 28 Tagen fast wieder normalisiert, bei den anderen operierten Tieren (Gruppen 3, 4, 5, 6) blieben die Werte nach 28 Tagen auf hohem Niveau.

Tab. 13:

Beobachtungszeitraum 6 Wochen

Gruppe	präoperativ	nach 14 Tagen	nach 28 Tagen
1	9310 ±791	10410 ±1893	9490 ±2147
2	9030 ±870	14400 ±6548	11110 ±4718
3	10310 ±1644	22500 ±10045	20080 ±8855
4	8240 ±1977	27630 ±10031	22600 ±6372
5	10480 ±2518	16310 ±4719	17410 ±5897
6	9290 ±3345	20370 ±6471	19140 ±5504

Auch die Tiere, die über einen Zeitraum von 6 Monaten beobachtet wurden, wiesen postoperativ einen starken Leukozytenanstieg auf, der ebenfalls bei Gruppe 4 (Autotransplantation in das große Netz) am stärksten war. Bei Gruppe 3 (Splenektomie, und Gruppe 6 (2/3-Resektion) gingen die Leukozytenwerte nach 4 Monaten, bei Gruppe 5 (Transplantation in die Bauchwand) nach 5 Monaten und bei Gruppe 4 nach 6 Monaten auf den Ausgangswert zurück (Tab. 14).

Tab. 14:

Beobachtungszeitraum 6 Monate

Gruppe	Monate							
	0	1/2	1	2	3	4	5	6
1	10310	9990	11710	12420	8370	9060	8700	8110
	± 4270	± 3210	± 4840	± 5200	± 2850	± 4110	± 3670	± 2760
2	11270	12100	10440	12330	7520	7000	8590	8980
	± 5980	± 2990	± 4050	± 4980	± 2590	± 2920	± 2420	± 2870
3	8340	15810	16420	13680	11400	10560	8520	9390
	± 4210	± 3270	± 7330	± 5340	± 3210	± 2810	± 1050	± 1740
4	9760	22300	20070	16790	14100	11300	11570	9790
	± 1340	± 6510	± 5410	± 2420	± 5930	± 3130	± 4250	± 3370
5	8630	17150	19400	14310	16700	12300	9440	8700
	± 3700	± 4890	± 5690	± 3170	± 4140	± 3410	± 2410	± 2460
6	7700	12460	17650	9290	9060	10710	9910	9400
	± 2150	± 6380	± 3670	± 2130	± 4890	± 3210	± 2570	± 2970

3.2.4 Ergebnisse der Lipopolysaccharidbelastung nach Splenektomie und milzerhaltenden Operationen

In Tabelle 15 ist die Letalität der Kontrolltiere (Gruppe 1, 2) und der Ratten, an denen eine Splenektomie bzw. eine milzerhaltende Operation vorgenommen wurde (Gruppe 3, 4, 5, 6), durch die Lipopolysacchariddosis von 10 mg/kg Körpergewicht 72 Stunden nach intraperitonealer Verabreichung dargestellt. Bei den Kontrolltieren ergab sich eine Letalität von 47 - 64 %. Am höchsten war die Sterblichkeit 6 Monate nach Splenektomie und 6 Monate nach Autotransplantation in die Bauchwand. Die Letalität der Ratten, bei denen Milzbrei in das große Netz transplantiert wurde bzw. deren Milz zu 2/3 reseziert wurde, war ähnlich groß und mit den Kontrolltieren vergleichbar.

Tab. 15:

Gruppe	Operation	Letalität	
		6 Wochen	6 Monate
1	keine	64 %	60 %
2	Scheinoperation	50 %	47 %
3	Splenektomie	33 %	81 %
4	Autotransplantation ins große Netz	75 %	42 %
5	Autotransplantation in die laterale Bauchwand	71 %	90 %
6	2/3-Resektion	66 %	55 %

3.2.4.1 Statistische Tabellen

In der folgenden Statistik wurden die verschiedenen Letalitäten der einzelnen Gruppen direkt miteinander verglichen (χ^2 -Test).

Tab. 15 a:

Beobachtungszeitraum 6 Wochen						
	1	2	3	4	5	6
1	x	n.s.	$p < 0,05$	n.s.	n.s.	n.s.
2	n.s.	x	n.s.	$p < 0,05$	$p < 0,05$	n.s.
3	$p < 0,05$	n.s.	x	$p < 0,01$	$p < 0,05$	$p < 0,05$
4	n.s.	$p < 0,05$	$p < 0,01$	x	n.s.	n.s.
5	n.s.	$p < 0,05$	$p < 0,05$	n.s.	x	n.s.
6	n.s.	n.s.	$p < 0,05$	n.s.	n.s.	x

Tab. 15 b:

Beobachtungszeitraum 6 Monate						
	1	2	3	4	5	6
1	x	n.s.	$p < 0,05$	n.s.	$p < 0,05$	n.s.
2	n.s.	x	$p < 0,05$	n.s.	$p < 0,01$	n.s.
3	$p < 0,05$	$p < 0,05$	x	$p < 0,01$	n.s.	n.s.
4	n.s.	n.s.	$p < 0,01$	x	$p < 0,01$	n.s.
5	$p < 0,05$	$p < 0,01$	n.s.	$p < 0,01$	x	$p < 0,05$
6	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	$p < 0,05$	x

In Tabelle 15 a und 15 b wird die vermutete Ähnlichkeit der Letalitäten von Tabelle 15 statistisch bestätigt: Die Kontrolltiere unterschieden sich nicht voneinander, die Letalität der Ratten von Gruppe 6 (2/3-Resektion) entspricht ebenfalls derjenigen der Kontrolltiere. Die Letalität der Gruppe 4 (Autotransplantation in das große Netz) war nach 6 Wochen relativ hoch. Im Vergleich mit

Gruppe 2 ergab sich eine wesentlich höhere Letalität ($p < 0,05$). Sie fiel jedoch nach 6 Monaten auf 42 % und entsprach derjenigen der Kontrolltiere. Nach Splenektomie (Gruppe 3) ergab sich 6 Wochen postoperativ mit 33 % die niedrigste Letalität, die jedoch 6 Monate postoperativ auf 81 % anstieg und statistisch derjenigen der Gruppe 5 (Autotransplantation in die Bauchwand) entsprach. Im Vergleich mit den Kontrolltieren (Gruppe 1, 2) und den Ratten, bei denen Milzgewebe in das große Netz transplantiert wurde (Gruppe 4) bzw. bei denen die Milz zu 2/3 reseziert wurde (Gruppe 6) war die Letalität der Gruppen 3 und 5 statistisch wesentlich höher.

3.3 Ergebnisse der szintigraphischen Untersuchungen einzelner Rattenorgane

Bei den dargestellten Werten handelt es sich um Mittelwerte mit Standardabweichung von den Faktoren der Aktivität des Herzmuskelgewebes (siehe 2.3).

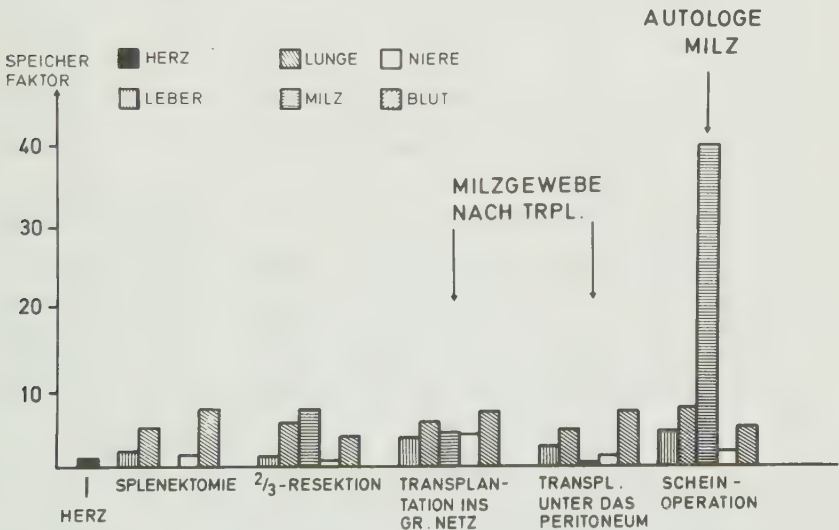
Tab. 16:

Gruppe	Leber	Duodenum	Herz	Lunge	Milz	Niere	Blut
1	2,2 ±1,4	1,4 ±1,4	1	7,2 ±5,7	35,7 ±42,3	1,5 ±0,7	5,2 ±3,1
2	1,9 ±0,6	1,0 ±1,3	1	4,8 ±2,6	-	1,4 ±0,8	7,0 ±3,9
3	2,7 ±1,1	1,5 ±0,6	1	5,3 ±2,1	0,6 ±0,2	1,6 ±0,5	6,8 ±3,1
4	3,7 ±3,2	1,0 ±0,8	1	4,7 ±2,9	0,8 ±0,7	2,5 ±2,0	7,6 ±3,0
5	1,1 ±0,6	0,8 ±0,1	1	6,1 ±8,5	7,2 ±5,0	0,5 ±0,4	2,6 ±2,2

Tabelle 16 zeigt, daß die vollständig erhaltene Milz der Kaninchen der Gruppe 1 (Scheinoperation) den höchsten Speichersfaktor aufwies, d. h. die größte Menge der markierten, wärmegeschädigten autologen Erythrozyten speicherte. Die Milzreste der Gruppen 3 und 5 (Autotransplantation in das große Netz und 2/3-Resektion) wiesen nur 1/5 der Speicheraktivität der erhaltenen Milz der Gruppe 1 auf. Sie speicherten jedoch mindestens die 5fache Menge der wärmegeschädigten Erythrozyten wie die Kaninchen der Gruppe 4 (Transplantation in die Bauchwand).

Bild 5:

Tc^{99} -MARKIERUNG NACH MILZERHALTENDEN OPERATIONEN 6 WOCHEN POST OPERATIONEM



In Bild 5 wird der etwa fünffach höhere Speichersfaktor der autologen Milz der Gruppe 1 (Scheinoperation) im Vergleich zu der in das große Netz transplantierten bzw. der zu 2/3 resezierten Milz deutlich. Die Speicherungsaktivität der in die Bauchwand transplantierten Milz war minimal (Gruppe 4).

3.4 Ergebnisse der Verlaufskontrolle von Leukozyten, Thrombozyten und Gewicht der Kaninchen

3.4.1 - Leukozyten / μ l, Mittelwerte und Standardabweichungen

Tabelle 17 zeigt die Leukozytenwerte der operierten Kaninchen, die präoperativ, eine Woche postoperativ und dann alle zwei Wochen gemessen wurden. Hier nahmen die Leukozyten bei allen Gruppen um ungefähr den gleichen Betrag zu und blieben innerhalb der 12wöchigen Beobachtungszeit auf einem hohen Niveau.

Tab. 17:

Anzahl der Wochen postoperativ

Gruppe	0	1	3	5	7	9	12
2	7128 ± 404	9686 ± 2540	9964 ± 1216	17060 ± 1452	17312 ± 2506	16110 ± 1781	15030 ± 1733
3	9749 ± 2295	10430 ± 3572	14919 ± 3342	18764 ± 4541	18989 ± 3661	18461 ± 3042	20073 ± 2295
4	8043 ± 1069	9532 ± 3487	13252 ± 2341	19367 ± 4019	19330 ± 2830	21312 ± 4381	15342 ± 2940
5	7328 ± 1404	10201 ± 3608	15174 ± 1413	18928 ± 5060	18267 ± 2949	17211 ± 1433	16890 ± 2810

3.4.2 - Thrombozyten in G/l, Mittelwerte und Standardabweichung

Die Thrombozyten nahmen sowohl nach der Scheinoperation (Gruppe 2) und den ilzerhaltenden Operationen (Gruppe 4, 5) als auch nach Splenektomie beträchtlich zu. Im Verlauf von 12 Wochen gingen die Thrombozytenwerte bei keiner einzigen Gruppe auf den Ausgangswert zurück (Tab. 18).

Tab. 18:

Anzahl der Wochen postoperativ

Gruppe	0	1	3	5	7	9	12
2	265	523	502	492	453	461	484
	± 112	± 42	± 189	± 87	± 91	± 102	± 95
3	275	502	416	346	402	358	343
	± 92	± 18	± 107	± 209	± 78	± 16	± 72
4	264	322	552	480	482	476	508
	± 58	± 67	± 77	± 73	± 92	± 81	± 76
5	271	431	340	375	392	402	340
	± 68	± 53	± 126	± 206	± 212	± 64	± 85

3.4.3 - Gewicht, Mittelwerte und Standardabweichungen

Im Gegensatz zu den Ratten verloren nicht alle Kaninchen nach den Operationen an Gewicht. Der größte Gewichtsverlust war bei Gruppe 2 (Scheinoperation) festzustellen, die Tiere verloren eine Woche nach der Operation im Durchschnitt 250 g. Gruppe 3 (Splenektomie) und Gruppe 5 (2/3-Resektion) verloren 80 bzw. 50 g postoperativ, Gruppe 4 (Autotransplantation in das große Netz) nahm um durchschnittlich 50 g zu.

Im weiteren Verlauf nahmen die Tiere der Gruppe 4 am meisten zu (700 g), während die Tiere nach 2/3-Resektion nur um durchschnittlich 300 g zunahmen (Tab. 19).

Tab. 19:

Anzahl der Wochen postoperativ

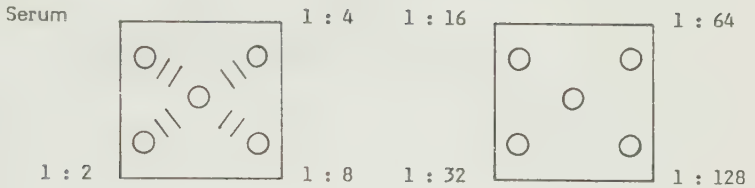
Gruppe	0	1	3	5	7	9	12
2	3600 g ±875 g	3350 g ±550 g	3600 g ±550 g	3700 g ±500 g	3900 g ±425 g	4020 g ±375 g	4150 g ±405 g
3	3580 g ±475 g	3500 g ±280 g	3750 g ±450 g	3800 g ±450 g	4100 g ±550 g	4150 g ±680 g	4250 g ±475 g
4	3150 g ±750 g	3200 g ±710 g	3400 g ±615 g	3550 g ±545 g	3700 g ±370 g	3900 g ±355 g	3850 g ±525 g
5	3800 g ±435 g	3750 g ±440 g	3800 g ±495 g	3850 g ±710 g	3900 g ±475 g	4100 g ±560 g	4100 g ±550 g

3.4.4 Ergebnisse des Antikörnernachweises mit der Immunodiffusion

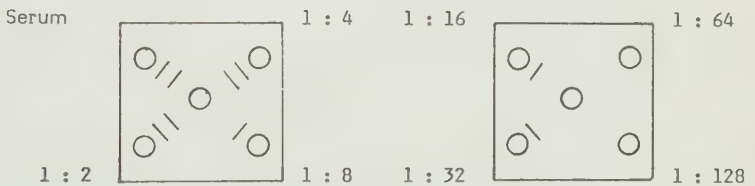
Die Antikörperbildung nach einer Injektion von *Escherichia coli* Lipopolysaccharid B (Durchführung siehe 2.4.3) wurde anhand der Immunodiffusion nach Ouchterlony überprüft. Graphik 3 und Graphik 4 sind eine Kopie der gefärbten Glasplatte. Beide zeigen, daß bei den Kaninchen der Gruppe 1 eine Antikörperbildung eingesetzt hat. Die Doppelbanden bei den höheren Konzentrationen des Antiserums sind wohl auf Verunreinigungen des Lipopolysaccharids zurückzuführen. Bei Kaninchen I ist ab einer Verdünnung des Serums mit isotonischer Kochsalzlösung von 1 : 16 keine Präzipitation mehr festzustellen, bei Kaninchen II erscheint diese erst ab einer Konzentration von 1 : 64 nicht mehr.

Bild 6:

Graphik 3 Kaninchen I



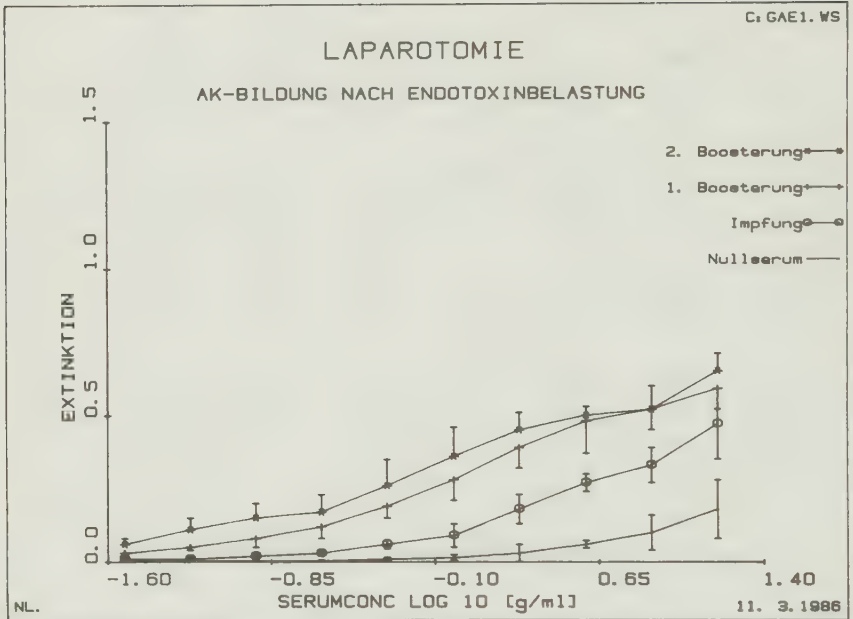
Graphik 4 Kaninchen II



3.4.5 Ergebnisse der Messung der Antikörperbildung nach der Endotoxingabe und den beiden Boosterungen, Extinktionsmittelwerte und Standardabweichung

In den Abbildungen 7 - 10 ist die Antikörperbildung der Kaninchen der Gruppen 2 (Scheinoperation), 3 (Splenektomie), 4 (Autotransplantation in das große Netz) und 5 (2/3-Resektion der Milz) nach der Endotoxingabe bzw. den Boosterungen veranschaulicht. Die Konzentration des Antikörperserums (siehe Tab. 5) wurde im dekadischen Logarithmus gegen die Extinktion aufgetragen. Die aufgezeichneten Punkte entsprechen den zehn gemessenen Antiserumkonzentrationen von 0,03 mg/ml (- 1,60) bis 15,5 mg/ml (1,25). Zusätzlich sind die jeweiligen Standardabweichungen eingezeichnet.

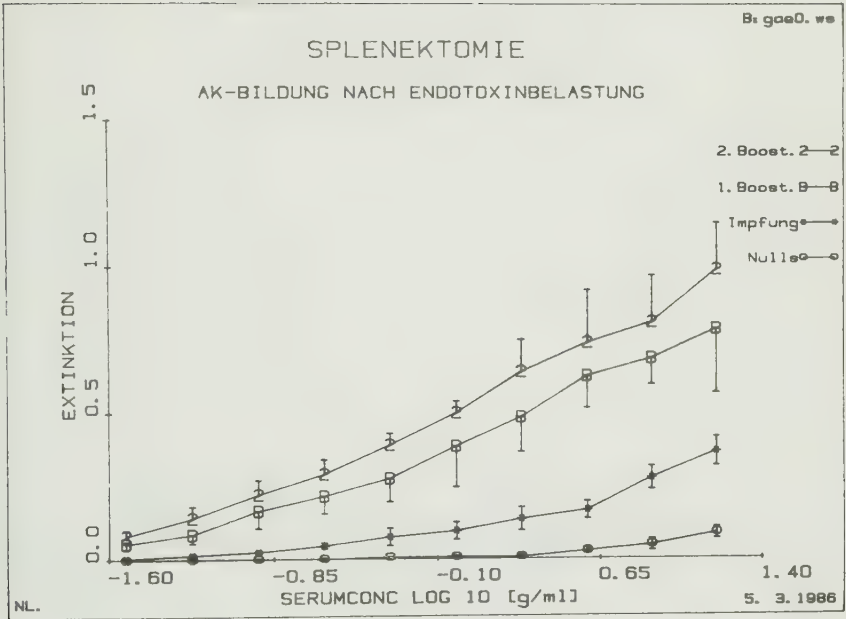
Bild 7:



0,03 0,06 0,12 0,24 0,48 0,97 1,9 3,9 7,75 15,5 [AS] mg/ml

Bild 7 zeigt den Antikörperanstieg bei den 4 Kaninchen der Gruppe 2 (Scheinooperation). Nach der Impfung zeigte sich ein erheblicher Anstieg des Antikörpertiters, der nach der 1. und 2. Boosterung noch weiter zunahm. Dieser Anstieg konnte statistisch verifiziert werden, es ergab sich beim Vergleich des Nullserums mit den Werten nach der Impfung ein $p < 0,05$ (t-Test für ungepaarte Daten).

Bild 8:

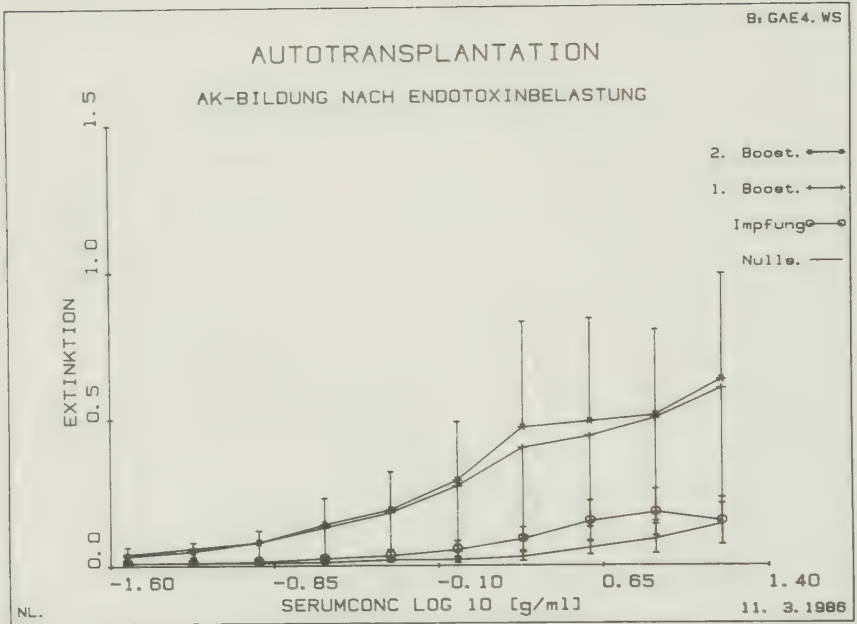


0,03 0,06 0,12 0,24 0,48 0,97 1,9 3,9 7,75 15,5 [AS] mg/ml

Bei den 4 Kaninchen der Gruppe 3 (Splenektomie) ist ebenfalls ein regelmäßiger, statistisch signifikanter Anstieg des Antikörpertiters festzustellen (Bild 8).

(Vergleich Nullserum mit Serum nach Impfung: $p < 0,001$, t-Test für ungepaarte Daten). Die Streubreite der einzelnen Werte unterscheidet sich nur unwesentlich von der der scheinoperierten Tiere.

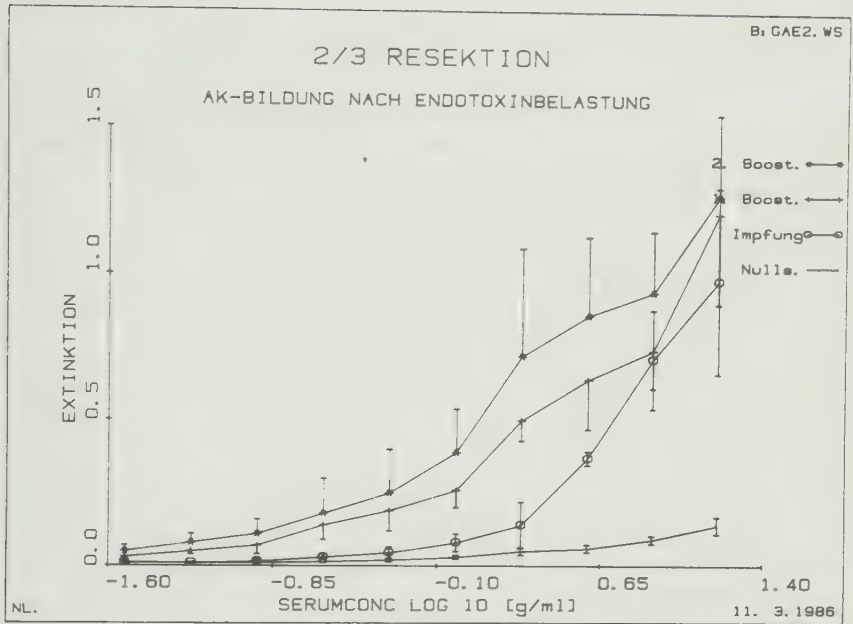
Bild 9:



0,03 0,06 0,12 0,24 0,48 0,97 1,9 3,9 7,75 15,5 [AS] mg/ml

Bild 9 zeigt den Antikörpertiterverlauf bei den 4 Kaninchen der Gruppe 4 (Autotransplantation von Milzbrei in das große Netz). Bei diesen Tieren fällt besonders der unwesentliche Anstieg nach der Impfung im Vergleich zum Nullserum auf. Erst nach der 1. Boosterung zeigt sich ein signifikanter Antikörpertiteranstieg ($p < 0,02$, t-Test für ungepaarte Daten). Bei dieser Gruppe lagen die Werte nach den Boosterungen innerhalb der größten Streubreite, was sich vor allem bei den höheren Konzentrationen des Antiserums zeigt.

Bild 10:



0,03 0,06 0,12 0,24 0,48 0,97 1,9 3,9 7,75 15,5 [AS] mg/ml

Bild 10 zeigt den Verlauf des Antikörpertiters bei den 4 Kaninchen, deren Milz zu 2/3 reseziert wurde (Gruppe 5). Diese Tiere hatten den weitaus höchsten Anstieg des Antikörpertiters nach der Impfung. Im Vergleich mit dem Nullserum ergab sich ein $p < 0,005$ und beim Vergleich des Antikörperspiegels nach der Impfung von Gruppe 5 mit den Gruppen 2, 3 und 4 war $p < 0,001$ (t-Test für ungepaarte Daten). Außerdem erreichte der Antikörpertiter bei dieser Gruppe nach der 2. Boosterung den höchsten Wert, verglichen mit den Kaninchen der anderen Gruppen. Die Streubreite der einzelnen Werte war bei Gruppe 5 etwas geringer als bei Gruppe 4.

3.4.6 Ergebnisse der Untersuchung der chemotaktischen Aktivität der Leukozyten

Alle 16 Kaninchen der Gruppen 2, 3, 4 und 5 wurden dieser Untersuchung unterzogen. Die Werte in Tab. 20 und 21 sind der Durchschnitt von den 4 Kaninchen jeder Gruppe. Bei jeder Untersuchung wurden 10 Gesichtsfelder ausgezählt, wovon ebenfalls ein Mittelwert gebildet wurde.

Tab. 20: Gesichtsfeld ohne Reizserum

Gruppe	präoperativ	nach 1 Woche	nach 4 Wochen	nach 8 Wochen
2	4,2 ±2,2	14,4 ±13,4	11,5 ±7,2	12,6 ±10,0
3	3,4 ±3,1	5,0 ±6,2	16,8 ±9,2	9,2 ±6,3
4	11,2 ±9,3	20,1 ±17,3	17,3 ±16,7	16,4 ±4,8
5	5,7 ±7,3	53,2 ±32,8	16,4 ±11,3	23,8 ±13,1

Tabelle 20 zeigt, daß bei den Gruppen 2 (Scheinoperation), 4 (Autotransplantation von Milzbrei in das große Netz) und 5 (2/3-Resektion der Milz) eine Woche nach den Operationen ein Anstieg der chemotaktischen Aktivität zu verzeichnen war, der jedoch statistisch nicht von Bedeutung war. Nur bei Gruppe 3, den splenektomierten Tieren, war nach einer Woche kein Unterschied in der chemotaktischen Aktivität festzustellen. Nach 4 bzw. 8 Wochen glichen sich die Werte aller Gruppen und behielten, verglichen mit dem präoperativen Ausgangswert, eine höhere chemotaktische Aktivität.

Tab. 21: Gesichtsfeld mit Reizserum

Gruppe	präoperativ	nach 1 Woche	nach 4 Wochen	nach 8 Wochen
2	22,3	64,0	33,7	42,5
	$\pm 19,3$	$\pm 68,3$	$\pm 8,3$	$\pm 22,5$
3	12,0	33,2	74,0	44,7
	$\pm 11,2$	$\pm 16,7$	$\pm 42,5$	$\pm 26,3$
4	29,8	30,4	33,1	27,2
	$\pm 22,7$	$\pm 15,9$	$\pm 8,7$	$\pm 12,4$
5	10,9	60,5	42,2	49,2
	$\pm 7,1$	$\pm 58,8$	$\pm 13,6$	$\pm 16,6$

Tabelle 21 zeigt den Durchschnittswert der durchgewanderten Leukozyten pro Gesichtsfeld mit chemotaktischem Reiz. Hier war eine Woche nach den Operationen bei den Gruppen 2 (Scheinoperation), 3 (Splenektomie) und 5 (2/3-Resektion) ein statistisch nicht signifikanter Anstieg der Leukozyten bemerkbar. Nur bei der Gruppe 4 (Autotransplantation in das große Netz) war kein Anstieg festzustellen, was sich nach 4 bzw. 8 Wochen bestätigte. Bei den anderen Gruppen sank der erste postoperative Wert nach 8 Wochen wieder ab, erreichte jedoch nicht den präoperativen Ausgangswert.

Bild 11 und 12 sind Photographien der Unterseite eines durchwanderten Filters, nach der Färbung der Leukozyten. Bild 11 zeigt die Unterseite eines Filters bei einem Kaninchen der Gruppe 2 (Scheinoperation) bei 400facher Vergrößerung ohne Reizserum. Es sind 3 Leukozyten erkennbar. Bild 12 zeigt den Filter desselben Kaninchens, ebenfalls bei 400facher Vergrößerung, diesmal mit dem chemotaktischen Reizserum. Es sind 55 durchgewanderte Leukozyten erkennbar.



B1
11



B1
12

4. Diskussion

Aufgabe dieser Dissertation ist, durch den Vergleich der verschiedenen milz-erhaltenden Operationen mit Splenektomie, Scheinoperation und Normalzustand, eine vorteilhafte Methode der Behandlung der verletzten Milz zu finden. Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß die Milz sowohl humorale und zelluläre immunologische Prozesse beeinflußt, als auch an Clearance und phagozytotischen Prozessen beteiligt ist, sollten einige dieser Teilfunktionen unter verschiedenen Bedingungen untersucht werden.

4.1 Verlaufskontrolle des Blutbildes und Gewichte

Bei den Ratten trat nach Splenektomie und den milz-erhaltenden Operationen in allen Fällen ein signifikanter Anstieg der Leukozyten ($p < 0,05$) im Vergleich zur Ausgangslage auf. Besonders hoch war dieser bei den Tieren, bei denen der Milzbrei in das große Netz eingenäht wurde. Dieses Phänomen ist als "Post-splenektomie-Leukozytose" in der Literatur beschrieben (4). Es dauerte 4 - 5 Monate, bis sich die erhöhten Leukozytenwerte wieder normalisiert hatten.

Bei den scheinoperierten Tieren und bei den Kontrolltieren war kein Leukozytenanstieg zu erkennen. Bei den teilresezierten Ratten konnte eine raschere Normalisierung der Leukozytenwerte, und zwar bereits nach 2 Monaten, beobachtet werden. Diesbezüglich scheint eine Funktion der Milz rascher wiedergekehrt zu sein.

Bei den Kaninchen ergab sich ein signifikanter Leukozytenanstieg ($p < 0,05$) erst 3 bzw. 5 Wochen nach den Operationen. Dieser war bei allen Tieren zu beobachten und scheint mit den Impfungen, die in dieser Zeit begonnen wurden und oft zu schlecht heilenden, oberflächlichen Wunden führten, zusammenzuhängen. Ein weiteres Indiz für diese Feststellung ist, daß die Leukozyten 12 Wochen nach der Operation in keiner Gruppe in die Nähe des Ausgangswertes abgefallen waren. Die Impfwunden waren in dieser Zeit noch nicht abgeheilt.

Der Thrombozytenanstieg nach Splenektomie ist zumindest beim Menschen in ca. 75 % der Fälle zu erwarten (8). Auch in dieser Studie konnten signifikante Thrombozytenanstiege bei den splenektomierten und autotransplantierten Tieren dargestellt werden. Bei den Ratten, die splenektomiert wurden, und denen Milzbrei in die laterale Bauchwand transplantiert wurde, war der höchste Anstieg zu verzeichnen. Die Thrombozytenwerte gingen bei den an der Milz operierten Tieren nach etwa 3 - 4 Monaten zurück, sie normalisierten sich jedoch nicht. Dies korreliert gut mit Untersuchungen an Menschen, bei denen festgestellt wurde, daß der höchste Thrombozytenanstieg 13 Tage nach Splenektomie stattfindet (14).

Die hohen Thrombozytenwerte scheinen kein erhöhtes Thromboserisiko in sich zu bergen: 5 % von 86 Patienten, die elektiv splenektomiert wurden, entwickelten eine tiefe Beinvenenthrombose. Bei einer Vergleichsgruppe, die einer größeren abdominalen Operation unterzogen wurden, war der Prozentsatz doppelt so hoch. (14)

Bei allen Tieren, die operiert wurden, ließ sich ein geringer Gewichtsverlust bzw. eine Stagnation des Gewichtes feststellen. Nach etwa einem Monat wurde das Ausgangsgewicht wieder erreicht bzw. überschritten. Alle Tiere erholten sich demnach von der Operationsbelastung, zumindest körperlich.

4.2 Auswertung der Lipopolysaccharidbelastung

Beim Vergleich der Letalitäten (siehe 4.2.1) der verschiedenen Gruppen fällt die Ähnlichkeit der Kontrolltiere mit den Ratten auf, deren Milz zu $\frac{2}{3}$ reseziert wurde. Kein signifikanter Unterschied zeigte sich, wenn man die scheinoperierten und die autotransplantierten Ratten den oben genannten Gruppen gegenüberstellt. Erstaunlich ist die gegenüber den Ratten, die eine milzserhaltende Operation hinter sich hatten, bedeutend niedrigere Letalität der splenektomierten Ratten 6 Wochen nach der Operation.

Ein ähnlicher Befund wurde in der Literatur beschrieben: Ratten wurden 6 Wochen nach Splenektomie bzw. Autotransplantation von Milzbrei mit einer subletalen, intravenösen Pneumokokkendosis belastet. 24 Stunden später fand sich bei den autotransplantierten Tieren eine höhere Pneumokokkenzahl im Blut als bei den splenektomierten Ratten (66). Diskutiert wurde eine Hemmung der retikuloendothelialen Funktion von Lunge und Leber in Anwesenheit von autotransplantierten Milzresten.

Andererseits kann dieser Befund auch mit der Regenerationsdauer des Transplantats begründet werden, da autotransplantiertes, zerriebenes Milzgewebe zunächst fast völlig nekrotisch wird. Nach einiger Zeit regeneriert das Transplantat von der Oberfläche aus, um dann histologisch von normalem Milzgewebe nicht mehr unterscheidbar zu sein. Das Implantat hat frühestens 4 Wochen nach der Einpflanzung das Ausgangsgewicht erreicht (61).

4 Monate postoperativ ergaben sich ganz andere Ergebnisse: Die Ratten, bei denen Milzbrei ins große Netz implantiert worden war, hatten nach Lipopolysaccharidbelastung die niedrigste Letalität. Sie war statistisch aber nicht von derjenigen der Kontrolltiere, der scheinoperierten Tiere und der Ratten, deren Milz teilreseziert wurde, zu unterscheiden. Verglichen mit diesen Gruppen zeigten die splenektomierten Ratten und die Ratten, deren Milzbrei in die laterale Bauchwand verpflanzt wurde, die höchste Letalität (siehe 4.2.1).

Andere Autoren fanden, daß intraperitoneal autotransplantiertes Milzgewebe bei säugenden Ratten in 100 % und bei erwachsenen Ratten nur in 10 % der Fälle regeneriert (32). Wenn man aber die niedrige Letalität nach Autotransplantation ins große Netz mit der nach Splenektomie vergleicht, scheint die Regenerationsfähigkeit des Milzgewebes doch größer als 10 % zu sein. Dies wird auch von anderen Autoren bestätigt (17).

Unsere Ergebnisse sprechen dafür, daß die Teilresektion der Milz schon früh nach der Operation und die autologe Transplantation von Milzbrei ins große Netz erst nach etwa 6 Monaten guten, mit erhaltener Milz vergleichbaren Schutz bei einer Sepsis durch *Escherichia coli* Lipopolysaccharid bieten. Die autologe Transplantation von Milzgewebe in die laterale Bauchwand kann damit nicht konkurrieren und bietet nicht mehr Schutz als die Splenektomie.

4.3 Auswertung der szintigraphischen Untersuchungen

Beim Betrachten des Bildes 5 (siehe 3.3) fällt die, im Vergleich zu den Milzresten nach Teilresektion und Autotransplantation sehr hohe Speicherfunktion der erhaltenen Milz der scheinoperierten Ratten ins Auge. Nach dem t-Test für ungepaarte Daten ergibt sich ein bedeutend ($p = 0,05$) höherer Speichersfaktor. Die Speichersfaktoren nach 2/3-Resektion und Autotransplantation ins große Netz waren statistisch gleichwertig; das Milztransplantat in die laterale Bauchwand, also subperitoneal, nahm die wärmebeschädigten Erythrozyten nur minimal auf. Bei dieser Gruppe übernahmen die anderen Organe mit hohem reticuloendothelialen Anteil wider Erwarten keine vermehrte Speicherung. Leber und Lunge hatten in allen Gruppen in etwa gleich hohe Speichersfaktoren.

In diesem Versuch dürfte die kurze postoperative Erholungsdauer einen negativen Einfluß auf die zelluläre Clearance der an der Milz operierten Tiere haben. Es wäre durchaus vorstellbar und mit unseren Ergebnissen der Lipopolysaccharidbelastungsversuche zu vereinbaren, daß die Transplantate und der Milzrest nach Teilresektion nach etwa 6 Monaten eine mit der erhaltenen Milz vergleichbar hohe Speicherung übernehmen würden.

Entscheidend für eine ausreichende Clearance von zellulären Bestandteilen durch die Milz ist der Blutfluß durch die Milzarterie. Möglicherweise ergeben sich nach der 2/3-Resektion der Milz Veränderungen des Blutflusses, die die relativ geringe Speicherung nach dieser Operation erklären. Diese wäre gut mit einem Versuch in Einklang zu bringen, bei dem nach Ligatur der Milzarterie eine erheblich verzögerte Pneumokokken-clearance aus dem Blut von Ratten stattfindet (26). Andere Autoren fanden 4 Monate nach autologer Transplantation von Milzbrei bei Hunden eine der Norm entsprechende Phagozytose (99 mTc HSA-MMS Szintigramm) und eine normale Durchblutung des Transplantats (6).

4.4 Auswertung der Antikörperbildung

Anhand der Immunodiffusionsversuche konnten wir zeigen, daß nach Impfung mit dem *Escherichia coli* Lipopolysaccharid B eine Antikörperbildung einsetzt. Die Doppelbänder, die sich nach der Färbung darstellten, lassen sich wohl am besten mit einer Verunreinigung des Lipopolysaccharids erklären. Nach Angaben des Herstellers war die benutzte Charge nicht höchst-gereinigt, jedoch für immunologische Studien völlig ausreichend (62).

4.5 Messung des Antikörpertiters

Zur Messung des Antikörpertiters wählten wir den Elisa (enzyme linked immunosorbent assay), da dieser Test eine hohe Sensitivität besitzt und wegen stabiler, preiswerter Reagentien und einfach zu handhabender Geräte Vorteile gegenüber anderen immunologischen Tests hat (45). Beim Vergleich der Nullseren miteinander konnten wir feststellen, daß alle Kaninchen eine vergleichbare Ausgangslage gegenüber dem Antigen hatten. Zuvor bestehende *Escherichia coli*-Antikörper lagen nicht vor.

5. LITERATURVERZEICHNIS

- 1 Aigner K., Schwemmle K., Dobroschka J., Hild P., Henneking H., Bauer M., Teuber J., Schwetlick G.: "Replantation von Milzgewebe nach geburts-traumatischer Milzruptur", Langenbecks Arch. Chir. 354, 1981, S. 39 - 43
- 2 Albrecht H.: "Ein Fall von sehr zahlreich über das ganze Peritoneum ver-sprengten Nebenmilzen", Beiträge zur Pathologischen Anatomie 20, 1896, S. 513 - 527
- 3 Bargmann W.: "Histologie und mikroskopie Anatomie des Menschen", 7. Auflage, Georg-Thieme-Verlag Stuttgart, 1977, S. 264
- 4 Begemann H.: "Klinische Hämatologie", 2. Auflage, Georg-Thieme-Verlag Stuttgart, 1975, S. 102 - 112
- 5 Blascyk N., König A., Meier zu Eissen P.: "Beurteilung des Körperschadens nach Splenektomie wegen Milzruptur unter besonderer Berücksichtigung des Verhaltens der Immunglobuline", Zentralblatt für Chirurgie 101, 1976, S. 556 - 560
- 6 Böttcher W., Seufert R.M., Heusermann V., Munz D.: "Die Autotransplantation im Tierexperiment: Clearancefunktion, Durchblutung und Histologie", Langenbecks Arch. Chir. Suppl. 42, 1981, S. 211 - 215
- 7 Boivin A., Mesrobian L.: "Recherches sur les toxines des bacilles dys-enterique", C. r. Seanc. Soc. Biol. 128, 1938, S. 446 - 448
- 8 Boxer M.A., Brown J., Ellman L.: "Thromboembolie risk of postsplenectomy thrombocytosis", Arch. Surg., Vol. 113, 1978, S. 808 - 809
- 9 Brooks D.H.: "Surgery of the spleen", Surg. Clin. North Am., Vol. 55, 1975, S. 287 - 293
- 10 Calder M.: "Autoplastic splenic grafts: their use in the study of the growth of splenic tissue", Journal of Pathology, Vol. 49, 1938, S. 351 - 362
- 11 Cates K.L., Ray C.E., Quie P.G.: "Modified Boyden chamber method of meas-uring polymorphnuclear leucocyte chemotaxis", in Leukocyte Chemotaxis, ed. Gallin, Quie, Raven Press, 1978, S. 66 - 71
- 12 Chaimoff C., Douer D., Pick I.A., Pinkhas J.: "Serum Immunglobulin changes after accidental splenectomy in adults", The American Journal of Surgery, Vol. 136, 1978, S. 332 - 333
- 13 Claret I., Morales L., Montaner A.: "Immunological studies in the post-splenectomy syndrome", Journal of Pediatric Surgery, Vol. 10, 1975, S. 59 - 64
- 14 Coon W.W., Penner J., Glayett G.P., Eos N.: "Deep venous thrombosis and postsplenectomy thrombocytosis", Arch. Surg., Vol. 113, 1978, S. 429 - 431
- 15 Cooney D.R., Dearth J.C., Swanson S.E., Dewanjee M.K., Telander R.L.: "Relative merits of partial splenectomy, splenic reimplantation and immu-nization in preventing postsplenectomy infection", Surgery, Vol. 86, 1979, S. 561 - 569
- 16 Deitch E.A., O Neal B.: "Neutrophil function in adults after traumatic splenectomy", Journal of Surgical Research 33, 1982, S. 98 - 102

- 17 Dickerman J.D., Horner S.R., Coil J.A., Gump D.W.: "The protective effect of intraperitoneal splenic autotransplants in mice exposed to an aerosolized suspension of type III streptococcus pneumoniae", *Blood*, Vol. 54, Nr. 2, 1979, S. 354 - 358
- 18 Engvall E., Perlman P.: "Enzyme linked immunosorbent assay (Elisa), Quantitative assay of immunoglobulin G", *Immunochemistry* 8, 1971, S. 871 - 874
- 19 Gebrauchsinformation "Tecemin S", Behringwerke AG Marburg associated with Hoechst
- 20 Giuliano A.E., Lim R.C.: "Is splenic salvage safe in the traumatized patient?", *Arch. Surg.*, Vol. 116, 1981, S. 651 - 656
- 21 Goetzl E.J.: "Plasma and cell derived inhibitors of human neutrophil chemotaxis", *Annu. N.Y. Acad. Sci.* 256, 1975, S. 210 - 221
- 22 Goldthorn J.F., Schwartz A.D., Swift A.J., Winkelstein J.A. "Protective effect of residual splenic tissue after subtotal splenectomy", *Journal of Pediatric Surgery*, Vol. 13, 1978, S. 587 - 590
- 23 Graßhoff H.J., Juncken R.: "Die Immunantwort des Splenektomierten nach Tetatoxidbelastung", *Zbl. Chirurgie* 105, 1980, S. 1053 - 1056
- 24 Guthy E.: "Die Behandlung der verletzten Milz", *Langenbecks Arch. Chir.* 354, 1981, S. 173 - 179
- 25 Harrison S.: "Principles of internal medicine", 9th Edition, Mc Graw-Hill International Book Company, 1981, S. 638
- 26 Helpap B.: "Die lokale Gewebsverbrennung, Folgen der Thermochirurgie", *Hefte zur Unfallheilkunde*, Heft 159, Springer Verlag 1982, S. 44 - 46
- 27 Horton J., Ogden M., Williams M., Coln D.: "The importance of splenic blood flow in clearing pneumococcal organisms", *Ann. Surg.*, Vol. 195, 1982, S. 172 - 176
- 28 Hosea S.W., Brown E.J., Burch C.G., Berg R.A., Frank M.M.: "Impaired immune response of splenectomised patients to polyvalent pneumococcal vaccine", *The Lancet*, April II 1981
- 29 Kiefhaber P., Nath G., Moritz K., Gorich W., Kreitmair A., Schramm W.: "Eigenschaften verschiedener Lasertransmissionssysteme und ihre Eignung für die endoskopische Blutstillung", in *Kirchner H. (Hrsg.) Fortschritte der gastroenterologischen Endoskopie*, Band 7, Baden-Baden, S. 144
- 30 King H., Schumacker H.B.: "Susceptibility to infection after splenectomy performed in infancy", *Ann. Surg.* 136, 1952, S. 239
- 31 Klebanoff S.J.: "The Neutrophil", Elsevier/North Holland Biomedical Press, 1978, S. 43
- 32 Kovacs K.F., Vicente J.C., Touloukian R.J.: "Regeneration of splenic autotransplants in suckling and adult rats", *Arch. Surg.*, Vol. 116, 1981, S. 335 - 336

- 33 Leonhardt H.: "Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen", 5. Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1977, S. 159 - 162
- 34 Likhite V.: "Opsonin and Leukophilie Gammaglobulin in chronically splenectomised rats with and without heterotropic autotransplanted splenic tissue", *Nature*, Vol. 253, 1975, S. 742 - 743
- 35 Lüderitz O., et al: "Lipid A: Chemical Structure and Biological Activity", *Journal of Infectious Diseases*, Vol. 128, July 1973
- 36 Marine O., Manley O.T.: "Homeotransplantation and autotransplantation of the spleen in rabbits", *J. Exp. Med.*, Vol. 25, 1920, S. 113 - 125
- 37 Mayo W.J.: "Principles underlying surgery of the spleen", *JAMA* 54, 1910, S. 14 - 18
- 38 Morgenstern L., Shapiro S.J.: "Techniques of splenic construction", *Arch. Surg.*, Vol. 114, 1979, S. 449 - 454
- 39 Morris D.H., Bullock F.D.: "The importance of the spleen in resistance to infection", *Ann. Surg.*, Vol. 70, 1919, S. 513 - 521
- 40 Najjar V.A., Chaudhuri M.K., Konopinska D., Beck B.D., Payne P.P., Linehan L.: "Tuftsin, a physiological activator of phagocytic cells: a possible role in cancer suppression and therapy" in *Argumenting agents in cancer therapy*, Ed: Hersh E.M., Raven Press, N.Y. 1981, S. 459 - 478
- 41 Najjar V.A., Nishioka K.: "Tuftsin: a natural phagocytosis stimulating peptide", *Nature* 228, 1970, S. 672 - 673
- 42 Orda R., Barak J., Baron J., Spierer Z., Wiznitzer T.: "Postsplenectomy splenic activity", *Ann. Surg.*, Vol. 194, 1981, S. 771 - 774
- 43 Pean J.: "Ovariectomie et Splenectomie" ed 2. Paris, Germer-Bailliere, 1896, S. 129 - 138
- 44 Pearson H.A., Johnston D., Smith K., Toulorkian R.: "The born-again spleen: return of splenic function after splenectomy for trauma", *N. Engl. J. Med.*, Vol. 298, 1978, S. 1389 - 1392
- 45 Pedersen F.K., Henrichsen J.: "Detection of antibodies to pneumococcal capsular polysaccharides by enzyme linked immunosorbent assay", *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 15, 1982, S. 272 - 278
- 46 Pedersen F.K., Henrichsen J., Schiffman G.: "Antibody response to vaccination with pneumococcal capsular polysaccharides in splenectomised children", *Acta Paediatrica Scand* 71, 1982, S. 451 - 455
- 47 Philippart A.I., Hight D.W.: "Splenectomy in childhood, altered concepts of management", *The American Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, Vol. 2, Nr. 1, 1980, S. 61 - 68
- 48 Pringle K.C., Rowley D., Burrington J.D.: "Immunologic response in splenectomised and partially splenectomised rats", *Journal of Pediatric Surgery*, Vol. 15, Nr. 4, 1980, S. 531 - 536
- 49 Robertson D.A.F., Simpson F.G., Losowsky M.S.: "Blood viscosity after splenectomy", *British Medical Journal*, Vol. 283, 1981, S. 573 - 575
- 50 Robinette C.D., Fraumeni Jr. J.F.: "Splenectomy and subsequent mortality in veterans of the 1939 - 45 war", *Lancet* 7, 1977, S. 127 - 129

- 51 Rojo J., Glöckner W.M.: "Klinik der Haarzell-Leukämie und ihre Beeinflussung durch Splenektomie", *Onkologie*, Vol. 5, 1982, S. 216 - 222
- 52 Roth H., Daum R., Bolkenius M.: "Partielle Milzresektion mit Fibrinklebung - eine Alternative zur Splenektomie und Autotransplantation", *2. Kinderchir.* 35, 1982, S. 153 - 158
- 53 Ruf W., Pon D., Pressler V., Mc Namara J.J.: "Surgical technique for treatment of splenic rupture", *The American Journal of Surgery*, Vol. 137, 1979, S. 603 - 607
- 54 Scheele J.: "Wundversorgung an parenchymatösen Oberbauchorganen mit Fibrinkleber und Kollagenvlies", aus "Fibrinkleber in der Orthopädie", Thieme-Verlag Stuttgart, 1982, S. 232 - 242
- 55 Seufert R.M.: "Zur Autotransplantation der Milz", *Langenbecks Arch. Chir.* 362, 1984, S. 1 - 3
- 56 Seufert R.M., Böttcher W., Munz D., Heusermann U.: "Erste klinische Erfahrung mit der heterotopen Autotransplantation der Milz", *Chirurg* 52, 1981, S. 525 - 530
- 57 Sher R., Block C.S., Gomperts E.D.: "Overwhelming pneumococcaemia 17 years after splenectomy, a case report", *SA Medical Journal* 55, 1979, S. 643
- 58 Singer D.B.: "Postsplenectomy sepsis" in Rosenberg H.S. and Bolander P.R. (editors) "Perspectives in pediatric pathology", Chicago, Year Book Medical Publishers Inc., 1973, S. 285 - 305
- 59 Steele M., Lim R.L.: "Advances in management of splenic injuries", *The American Journal of Surgery*, Vol. 130, 1975, S. 159 - 165
- 60 Sullivan J.L., Schiffman G., Miser J., Ochs H.D., Hammerschlag M.R., Vichinsky E., Wedywood R.J.: "Immune response after splenectomy", *The Lancet* Jan. 28, 1978, S. 178 - 182
- 61 Tavassoli M., Ratzan R.J., Crosby W.H.: "Studies on regeneration of heterotopic splenic autotransplants", *Blood* 41, 1973, S. 701 - 709
- 62 Technical Information: Lipopolysaccharides-Bacterial, Difco Laboratories, Detroit Michigan USA
- 63 Traub A.C., Perry J.F.: "Splenic preservation following splenic trauma", *The Journal of Trauma*, Vol. 22, 1982, S. 496 - 501
- 64 Tung G., Miller C., Lim R.C., Fisher E.: "Effect of splenectomy on patients immunocompetent leukocytes", *Chir. Forum* 1977, Dallas Texas USA, 63. Kongreß
- 65 Waldeyer A., Mayet A.: "Anatomie des Menschen", 1. Teil, 14. Auflage, Walter de Gruyter, 1980
- 66 Weiss S.M., Rosato F.E., Stewart E., Murphey S.A., Jundkind D.L.: "Splenic autotransplant function in experimental bacteremia", *Surgical Forum* 30, 1979, S. 30 - 32
- 67 Welter H., Seifert J., Nath G., Kreitmair A., Eberhardt H., Gokel J.M.: "Blutstillung an Leber, Lunge und Milz mittels Infrarotkontaktkoagulator", *Zentralblatt für Chirurgie* 105, 1980, S. 91 - 101

6. DANKSAGUNG

Herr Priv.-Doz. Dr. Heiner Welter gilt für die Anregung zu dieser Arbeit und die freundschaftliche Betreuung bei ihrer Durchführung mein besonderer Dank.

Herrn Prof. Dr. Leonhard Schweiberer danke ich für die Möglichkeit, an seiner Klinik arbeiten zu können.

Herzlichst bedanken möchte ich mich auch bei Frau Annette Skwarra und Frau Angela Zoruba und Herrn Dr. Scheuber, die mir stets hilfreich zur Seite standen.

7. LEBENSLAUF

Am 27.7.59 wurde ich als Sohn von Dr. J. Gäsnsheimer, Dipl.-Chemiker, und Karin Gäsnsheimer, geb. Wunderlich, in Greenwich, Connecticut, USA geboren. Neben der deutschen Staatsbürgerschaft besitze ich auch die amerikanische.

Von 1965 - 69 besuchte ich die Grundschule an der Grandlstraße in München-Obermenzing, von 1969 - 78 das Karlsgymnasium in München-Pasing. Die Schulzeit in München wurde von 1971 - 73 durch einen Aufenthalt in Midland, Michigan, USA unterbrochen. Dort besuchte ich die North East Intermediate High School.

1979 begann ich das Medizinstudium an der LMU München und schloß es dort 1985 mit dem dritten Staatsexamen ab. 1985 erhielt ich auch die Approbation als Arzt.

Seit Februar 1986 arbeite ich im Rahmen des Zivildienstes in der Chirurgischen Klinik Innenstadt als Assistenzarzt.

